

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE BIOLOGÍA
Departamento de Zoología y Antropología Física



**BIOLOGÍA, ECOLOGÍA, GENÉTICA Y CONSERVACIÓN
DEL TOPILLO NIVAL (“CHIONOMYS NIVALIS”) EN
PEÑALARA Y EN SIERRA NEVADA.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Diana Pérez-Aranda Serrano

Bajo la dirección de los doctores
Francisco Suárez Cardona
Ramón C. Soriguer

Madrid, 2009

- **ISBN: 978-84-692-2404-5**

Bíología, ecología, genética y conservación del
Topillo nival (*Chionomys nivalis*)
en Peñalara y Sierra Nevada



Diana Pérez-Aranda Serrano

- TESIS DOCTORAL -

2008



Facultad de Ciencias Biológicas
Dpto. Zoología y Antropología Física



Facultad de Ciencias
Dpto. Ecología



Estación Biológica de Doñana (C.S.I.C.)
Dpto. Conservación de la Biodiversidad



Facultad de Ciencias
Dpto. Ecología



Facultad de Ciencias Biológicas
Dpto. Zoología y Antropología Física

Estación Biológica de Doñana (C.S.I.C.)
Dpto. Conservación de la Biodiversidad

TESIS DOCTORAL

**BIOLOGÍA, ECOLOGÍA, GENÉTICA Y CONSERVACIÓN
DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)
EN PEÑALARA Y SIERRA NEVADA**

Memoria presentada por

Diana Pérez-Aranda Serrano

para optar al grado de Doctora en Ciencias Biológicas

Fdo.

Vº Bº de los directores

Dr. Francisco Suárez Cardona

Dr. Ramón C. Soriguer

- 2008 -

ÍNDICE

Introducción general.....	1
Descripción de las áreas de estudio y macizos montañosos a los que pertenecen.....	25
 <u>Capítulo 1</u>	
Estatus de conservación de las poblaciones de topillo nival (<i>Chionomys nivalis</i>) en Sierra Nevada: distribución, selección de hábitat y abundancia relativa.....	47
 <u>Capítulo 2</u>	
Peso corporal y estrategia vital del topillo nival (<i>Chionomys nivalis</i>).....	97
 <u>Capítulo 3</u>	
Modelos de captura-marcaje-recaptura y dinámica poblacional del topillo nival (<i>Chionomys nivalis</i>).....	153
 <u>Capítulo 4</u>	
Patrones de uso del espacio e inferencias sobre el sistema de apareamiento en el topillo nival (<i>Chionomys nivalis</i>)	207
 <u>Capítulo 5</u>	
Aproximación a los rangos de referencia del perfil bioquímico sanguíneo del topillo nival (<i>Chionomys nivalis</i>).....	257
 <u>Capítulo 6</u>	
Estructura y caracterización genética del topillo nival (<i>Chionomys nivalis</i>) en España en base a marcadores microsatélites.....	305
 Síntesis.....	 349
Conclusiones.....	363
Agradecimientos.....	371

INTRODUCCIÓN GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. MARCO TEÓRICO	4
1.1. La fragmentación.....	4
1.2. Patrones de abundancia y distribución	6
2. EL ESCENARIO Y LOS ACTORES	7
3. LA ESPECIE Y SU HÁBITAT	8
3.1. Origen y evolución de la especie.....	9
3.2. Origen de sus hábitats.....	11
4. ¿QUÉ SE SABE SOBRE EL TOPILLO NIVAL?: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	13
5. ESTA TESIS	15
5.1. Contenido de los capítulos.....	16
6. BIBLIOGRAFÍA	19

1. MARCO TEÓRICO

1.1. LA FRAGMENTACIÓN

La fragmentación es el proceso por el cual una superficie grande y continua de hábitat queda dividida en dos o más fragmentos de menor tamaño (Meffe y Carroll 1997; Ewers y Didham 2006). En estos pequeños fragmentos la proporción del “efecto borde” es mayor en relación al área total del fragmento, con lo que *la fragmentación aumenta la superficie del hábitat alterado* por las condiciones exteriores (ambientales y bióticas) y *con ello la vulnerabilidad a la invasión de especies no propias del hábitat*, como especies exóticas y plagas autóctonas (Primack y Ros 2002).

Estos fragmentos de hábitat adecuado, además, quedan aislados entre sí en una matriz de hábitat modificado, por lo que *la fragmentación puede limitar el potencial de dispersión y colonización* de las especies que habiten en los mismos (Primack y Ros 2002; Ewers y Didham 2006).

Por último, el tamaño de los fragmentos se impone como una limitación física del tamaño poblacional de las especies residentes, de modo que en los fragmentos reducidos se manifiestan los *problemas de conservación asociados a las poblaciones pequeñas*, aumentando la vulnerabilidad de las mismas a la extinción local (Ewers y Didham 2006). Los problemas asociados a las poblaciones pequeñas se deben a tres causas principales:

1. *Pérdida de variabilidad genética*: las frecuencias alélicas pueden cambiar de una generación a otra simplemente debido al azar (= deriva genética), dependiendo de los individuos que produzcan descendencia, y esta reducción de la variabilidad genética tiene efectos genéticos nocivos varios, especialmente graves en las poblaciones pequeñas, que conducen a la (Meffe y Carroll 1997; Primack y Ros 2002):
 - depresión endogámica: afección caracterizada por una menor descendencia (e.g. menor fertilidad, por ejemplo, debida a anomalías en los espermatozoides) o una descendencia de individuos débiles (baja tasa supervivencia de juveniles) o

estériles, debido a que se produce la expresión de alelos perjudiciales heredados de ambos progenitores

- pérdida de flexibilidad evolutiva debido a la falta de variabilidad genética: es la limitación de la capacidad de la población para responder a cambios a largo plazo en el medio (e.g. contaminación, enfermedades, cambio global...)

2. *Estocasticidad demográfica*: son fluctuaciones demográficas debidas a variaciones aleatorias en las tasas de natalidad y mortalidad, en la proporción de sexos, etc...

3. *Estocasticidad ambiental*: variabilidad al azar del medio biológico (depredación, competencia, parásitos, enfermedades...) y físico (inundación, incendio, sequía, terremoto, erupción volcánica, etc...)

Cuanto menor sea una población, más vulnerable será frente a cualquiera de estos tres mecanismos, que generalmente interactúan sinérgicamente, reduciéndola aún más, hasta que, finalmente, se ve abocada a la extinción (Primack y Ros 2002; Ewers y Didham 2006).

Acabamos de exponer en una panorámica la magnitud de los efectos que provoca la fragmentación de un hábitat, pero ¿cuál es su origen? Generalmente, detrás de la fragmentación de un hábitat está la mano del hombre y la construcción de infraestructuras (e.g. las carreteras que atraviesan un área boscosa dividiéndola en fragmentos de menor tamaño, una presa que separa dos tramos de un río, etc...). Sin embargo, no todos los hábitats fragmentados tienen un origen antropogénico, sino que existen multitud de hábitats naturalmente fragmentados en la naturaleza (Watson 2002). Por ejemplo, los medios alpinos se comportan como islas, separados por una matriz de ambiente subalpino y/o mesetas (Burkey 1995), los ríos también están separados unos de otros por hábitats terrestres y marítimo-costeros (Fragan 2002), y los afloramientos rocosos en las praderas alpinas (Leisnham y Jamieson 2002), también son hábitats naturalmente fragmentados. Conviene aclarar que, independientemente del origen de la fragmentación, en los hábitats fragmentados se observan con mayor o menor intensidad los efectos descritos anteriormente.

Los hábitats rocosos de origen periglaciario, tipo canchales (acumulaciones de rocas) son también un ejemplo de hábitat naturalmente fragmentado, y constituirán además el escenario teórico en el que se desarrolla esta Tesis.

1.2. PATRONES DE ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN

Antes de introducir a los protagonistas de esta historia tenemos que completar el marco teórico con un segundo aspecto que nos situará contextualmente el desarrollo de la obra en el tiempo y sobre todo en el espacio.

Según la teoría general de la distribución de las especies (Brown 1984; Brown *et al.* 1995), existe una relación manifiesta entre la densidad de una especie y su distribución, por la cual, la densidad de una especie es más elevada en el centro de su área de distribución y decrece hacia la periferia. Esta teoría está basada en dos asunciones:

- 1) la abundancia y la distribución de las especies está limitada por la combinación de variables físicas y bióticas que definen las características de un nicho multidimensional.
- 2) la variación espacial de estas variables está autocorrelacionada, es decir, que los sitios más próximos tienden a presentar ambientes más similares que los sitios más distantes.

De estas dos asunciones se deriva que las condiciones ecológicas (y por tanto la densidad) son más favorables en un área (que se configurará como el centro del rango de distribución de la especie) y a partir de ahí la abundancia decrece según se aumenta la distancia en cualquier dirección.

Este patrón se puede ilustrar muy bien con la fauna de micromamíferos de la Península Ibérica, donde la mayoría de estas especies tienen un origen centroeuropeo (Moreno y Barbosa 1992; Soriguer *et al.* 2003). La llegada de estas especies y la colonización de la Península Ibérica se remonta a los periodos glaciares del Pleistoceno (Ruiz Bustos *et al.* 1982; Nadachowski 1992; Chaline *et al.* 1999; Cuenca Bescós 2002;

Soriguer *et al.* 2003; Arribas 2004; Gómez y Lunt 2006) cuando las condiciones de frío extremo empujaron a la fauna a desplazar sus áreas de distribución hacia latitudes más térmicas, como las penínsulas mediterráneas (ibérica, itálica y balcánica). Hoy en día, estas penínsulas se encuentran en el extremo del área de distribución de muchas de estas especies, lo que hace que en un contexto europeo, se caractericen por presentar una fauna más pobre en diversidad y abundancia en comparación con centroeuropa.

Dentro de la escala local de la Península Ibérica, este patrón de empobrecimiento en el número de especies de micromamíferos y en su abundancia específica, sigue siendo muy patente a lo largo de un gradiente latitudinal que alcanza su extremo más pobre en el sur peninsular (Moreno y Barbosa 1992; Palomo *et al.* 1994; Soriguer *et al.* 2003). Cuanto más al sur, más aumenta la distancia al reservorio continental de especies (centroeuropa) y más aumentan las condiciones de mediterraneidad, alejándose del óptimo ecológico de las especies. Esta situación de pobreza (en diversidad y abundancia) generalizada en la Península Ibérica, que se agrava según avanzamos hacia el sur, aparece, fundamentalmente, como el resultado de un proceso natural de lenta extinción de las poblaciones (como lo confirman los trabajos paleontológicos) y que ha venido determinado por una falta de respuesta adaptativa de las especies centroeuropeas al medio mediterráneo (Soriguer *et al.* 2003).

2. EL ESCENARIO Y LOS ACTORES

Tenemos, pues, un doble marco teórico: **1)** los hábitats (naturalmente) fragmentados y sus consecuencias sobre las poblaciones que se agravan según disminuye el tamaño del fragmento; y **2)** la pérdida de las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo de una especie a medida que aumenta la distancia con respecto al centro del área de distribución de la misma.

Los extremos de ambos gradientes (elevado grado de fragmentación de las poblaciones y lejanía del óptimo ecológico) contextualizan el delicado escenario de las poblaciones ibéricas del protagonista de esta historia: el topillo nival o neverón (*Chionomys nivalis*).

3. LA ESPECIE Y SU HÁBITAT

El topillo nival es un roedor que se distribuye por el Paleártico Occidental, ocupando medios abiertos y rocosos con una escasa cobertura vegetal, caracterizados por la dominancia de bloques de piedras que forman una matriz entre cuyos intersticios desarrollan sus vidas (Le Louran y Janeau 1975; Krapp 1982; Amori 1999). Este tipo de hábitat tiene un origen periglaciario, lo que hace que sean más predominantes en las zonas de la alta montaña, donde a su vez aparecen como parches discretos y dispersos en el paisaje. En consecuencia la especie no presenta una distribución continua a lo largo de su rango, sino “*insular*” (en islas geográficas), fundamentalmente en los principales macizos montañosos, y *fragmentada*, dentro de estos, pues está restringida a los hábitats rocosos adecuados.

Según este patrón de ocupación, la especie se distribuye fundamentalmente por los principales macizos montañosos de Europa y Oriente Próximo, desde las montañas de Irán, Turquía y Líbano hasta la Península Ibérica, pasando por el Cáucaso, Balcanes, Cárpatos, Alpes Dináricos, Apeninos, Alpes, Macizo Central francés, Pirineos, Cordillera Cantábrica, Sistema Ibérico, Sistema Central y S.Nevada (Krapp 1982; Amori 1999; Wilson y Reeder 2005) (Figura 1a). La Península Ibérica está en el extremo suroccidental del área de distribución de esta especie, lo que sitúa las poblaciones ibéricas en una situación de vulnerabilidad potencial, pues las condiciones ambientales distan de ser las óptimas.



Figura 1a- Distribución mundial del topillo nival (*Chionomys nivalis*)

– tomada de la European Quaternary Mammalia Database-.

Antes de pasar a describir el contenido de esta tesis, y continuando con el símil teatral, en el que ya conocemos el escenario (marco teórico) en el que se desenvuelve, quería dedicarle unas palabras introductorias a los protagonistas de la obra: los topillos nivales. En el símil teatral, estos comentarios irían encabezados por la palabra “biografía”, y a continuación se hablaría de la vida real de los actores y las escuelas profesionales que han modelado su perfil de actor. En nuestra historia (esta Tesis), estos contenidos (quiénes son los actores, de dónde vienen y por qué son así) llevan en realidad otros encabezamientos: “origen y evolución de la especie” y “origen de sus hábitats”:

3.1. ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA ESPECIE

A nivel taxonómico, *Chionomys nivalis*, forma parte del género *Chionomys*, perteneciente a la subfamilia Arvicolinae, dentro de la familia Muridae y del orden Rodentia.

Si bien el género *Chionomys* incluye sólo tres especies (*C.nivalis*, *C.gud* y *C.robertini*), la subfamilia Arvicolinae está ampliamente diversificada en todo el hemisferio norte, habiendo dado lugar a 140 linajes monofiléticos (Chaline y Graf 1988; Chaline *et al.* 1999). Dentro de esta subfamilia destaca el género *Microtus*, que ha experimentado una diversificación ecológica, morfológica y cromosómica particularmente rápida (Chaline 1974) con 65 especies actuales distribuidas por el Paleártico y el Neártico (Chaline *et al.* 1999). Hasta hace no mucho tiempo *Chionomys* se consideraba un subgénero dentro de *Microtus* (e.g. Krapp 1982). Fue elevado a la categoría de género en base a las peculiaridades morfológicas y la especialización ecológica (Chaline y Graf 1988); y hoy día existen evidencias con un buen soporte científico de que el género *Chionomys* y *Microtus* son dos linajes separados (Chaline y Graf 1988; Jaarola *et al.* 2004). El antecesor común más reciente de todas las especies del género *Microtus* parece que fue la especie *Allophaiomys pliocaenicus* que se originó hace 2.3-2.4 Ma (Jaarola *et al.* 2004). Sin embargo, el origen de *Chionomys* no está del todo claro, y alberga dos posibles alternativas (Nadachowski 1991):

- 1) el registro fósil sugiere que el género *Chionomys* procede también de *A.pliocaenicus*, siendo uno de los primeros linajes que se diferenció, en el proceso radiativo de este grupo, hace unos 0.6-1Ma.
- 2) el género *Chionomys* se escindió de un antecesor desconocido del género *Mimomys* (antecesor de *Allophaiomys*), hace más de 2.4 Ma, lo cual está apoyado por evidencias bioquímicas y cariológicas (Chaline y Graf 1988), pero no confirmado por el registro fósil.

Sea cual fuera su origen, no hay duda de que en el Pleistoceno medio (0.6-0.12 Ma) ya se reconocen restos paleontológicos de *Chionomys* en Europa y Asia menor, y que son atribuidos a *C.nivalis* (Nadachowski 1991). La diferenciación de esta especie parece haber ocurrido en el área del Bósforo (región greco-anatólica), mientras que *C.gud* y *C.robertini* parece que divergieron como especies en el área del Cáucaso tiempo después, en el Pleistoceno Superior (Nadachowski 1991).

Ya centrados en *C.nivalis*, la especie (Figura 2a) se extendió desde el Bósforo y alcanzó su máxima expansión, cubriendo la mayor parte de Europa durante la glaciación Würmiense (hace 120,000-10,000 años) (Terzea 1972), cuando el paisaje estaba dominado por estepas abiertas y áridas. En la Península Ibérica, los yacimientos arqueológicos confirman que *C.nivalis* también está presente desde el Pleistoceno superior (120,000-10,000 años) (Arribas 2004). En la Península Ibérica las condiciones de frío y aridez asociadas a la época glaciaria remitieron hace unos 13,000 años, lo que favoreció la recuperación y expansión de los bosques (Arribas 2004). Los hábitat abiertos solo se conservaron en las cumbres de las montañas, por encima del nivel de los árboles, lo que supuso la fragmentación del área de distribución del neverón, que quedó relegado a los núcleos poblacionales puntuales y aislados que hoy en día conocemos.



Figura 2a.- Ejemplar de topillo nival o neverón (*Chionomys nivalis*)

3.2. ORIGEN DE SUS HÁBITATS

A diferencia de otros topillos que típicamente son excavadores y construyen complejas galerías en las que encuentran refugio y desarrollan su vida (e.g. *Microtus duodecimcostatus*, *M.lusitanicus*, *M.arvalis*, *M.agretis*, etc...), los topillos nivales encuentran su refugio en zonas de acumulación de bloques de rocas, entre cuyos intersticios se desplazan y realizan sus actividades vitales (Figura 3a). Este tipo de hábitat rocoso característico tiene un origen periglaciario. Este término agrupa una amplia variedad de procesos que se desarrollan bajo climas fríos, como consecuencia de la presencia de hielo y de los ciclos de hielo-deshielo del agua intersticial. Las formas periglaciares, o el modelado periglaciario, se desarrolla, por tanto, inmediatamente por debajo del límite de las nieves perpetuas en las montañas, y entorno a los glaciares polares, es decir en elevadas altitudes y latitudes de condiciones climáticas áridas y de frío intenso, lo que hace que sean frecuentes en las cumbres de montaña (Gutiérrez Elorza 2001).

La gelifracción o gelivación es uno de estos procesos periglaciares, y consiste en la fragmentación de las rocas debido a las tensiones producidas al congelarse el agua contenida en las grietas. El agua de lluvia o deshielo se introduce en las oquedades de las rocas. Si la temperatura desciende por debajo de los cero grados, el agua al solidificarse aumenta su volumen un 9%, presionando las paredes y aumentando las grietas hasta llegar a partir la roca. La gelifracción genera bloques y cantos angulosos que se acumulan al pie de la laderas formando taludes de derrubios llamados **canchales o pedreras**, cuya pendiente depende del tamaño de los cantos (Gutiérrez Elorza 2001). Morfológicamente, los canchales se definen como amontonamientos caóticos de bloques de distinto tamaño, de aristas definidas y sin matriz que rellene los intersticios (Gómez Ortiz 2002). Es en este tipo de hábitats, los canchales, donde habitan los topillos nivales, aunque secundariamente también se les ha localizado en tajos y afloramientos rocosos con fisuras y grietas profundas.

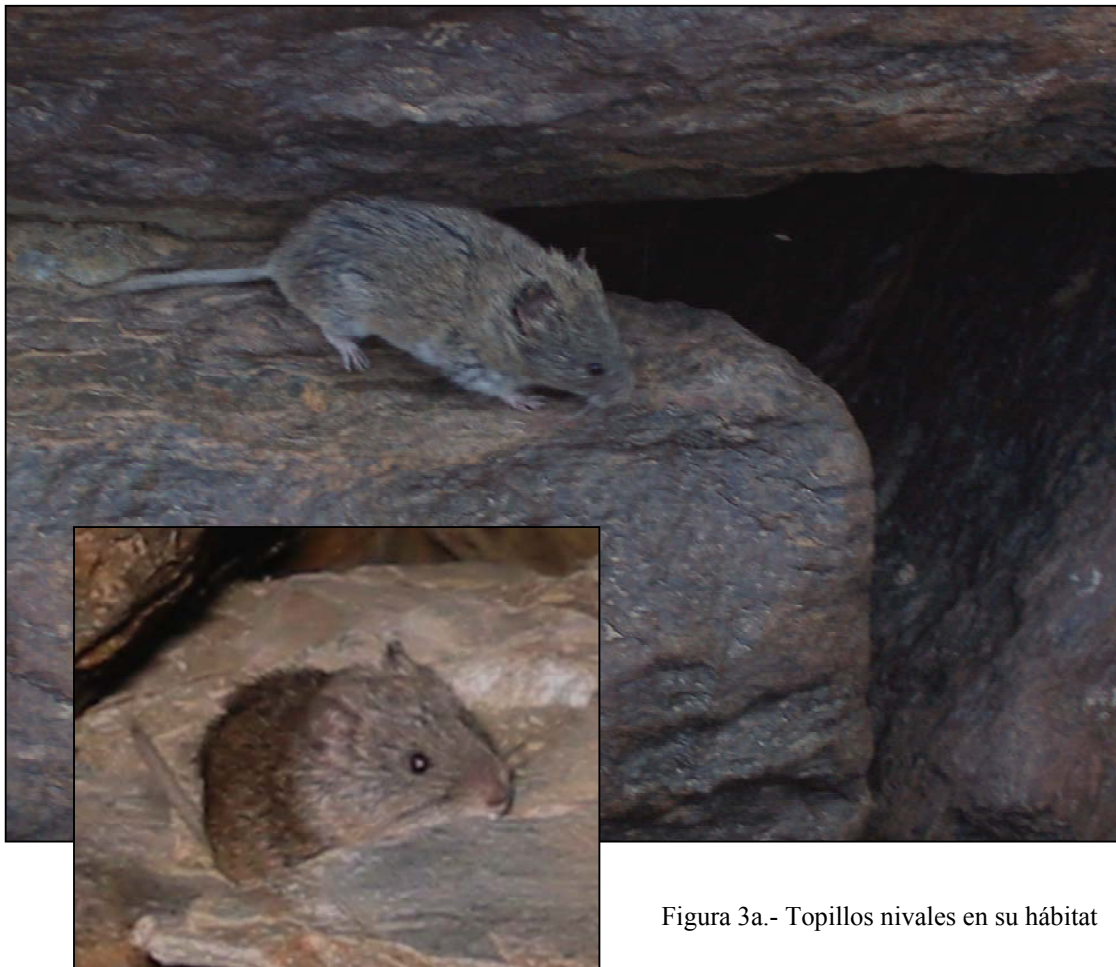


Figura 3a.- Topillos nivales en su hábitat

La matriz de huecos y aire del interior del canchal actúa como cojín o amortiguador térmico, de modo que en el interior de los canchales se crean unas condiciones particulares de estabilidad térmica, de las que el topillo nival no sólo se beneficia, sino que se ha hecho dependiente (Krystufek y Kovacic 1989), pues es lo que le permite vivir a tan elevada altitud en las montañas. De hecho, la moneda hay que mirarla desde el otro lado, en el sentido de que la asociación del topillo nival a la altitud no es el fin, sino el medio, o dicho con otras palabras, su presencia en hábitat fríos y de montaña está más asociada con una elección de microhábitat (hábitat rocosos tipo canchales) que con una adaptación fisiológica (Nappi 2002).

Y es que a pesar de su nombre científico (*Chionomys* = ratón de las nieves en griego; y *nivalis* = nevado o nevoso en latín) y su nombre común “topillo nival”, su presencia no está ligada a la nieve, ni a la altitud, sino a los hábitats rocosos (e.g. Janeau 1980; Chiarenzi *et al.* 1997; Janeau y Aulagnier 1997). Se trata pues de una especie eminentemente petrícola (habita en zonas rocosas) y troglófila (habita en cavidades) (Janeau y Aulagnier 1997), con lo que otro nombre, del tipo “topillo roquero”, reflejaría mejor su condición ecológica.

4. ¿QUÉ SE SABE SOBRE EL TOPILLO NIVAL?:

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Por último, antes de pasar a describir el contenido de esta tesis, quisiera presentar una breve revisión bibliográfica sobre el conocimiento que se tiene del topillo nival. En el ámbito ibérico, la mayoría de los trabajos sobre los neverones se limitan a confirmar la presencia de la especie en distintas localidades (Miller 1908; Morales Agacino 1936; Garzon-Heydt *et al.* 1970; Vericad y Meylan 1973; Ruiz Bustos y Padial 1980; Carro *et al.* 1995; Hermida 2001). Destacan también algunos trabajos de genética, principalmente sobre el estudio de sus cromosomas (Meylan y Graf 1973; Burgos *et al.* 1988; Burgos *et al.* 1990; Megías-Nogales *et al.* 2003). Por último, son muy significativas las recientes

aportaciones sobre el comportamiento social del topillo nival basados en estudios de cautividad (Luque-Larena *et al.* 2001; Luque-Larena *et al.* 2002a; Luque-Larena *et al.* 2002d; Luque-Larena *et al.* 2002c; Luque-Larena *et al.* 2003; Luque-Larena *et al.* 2004). Sin embargo, y salvo contadas excepciones (Irizar *et al.* 2002; Luque-Larena *et al.* 2002b), son pocos los trabajos realizados sobre ecología de poblaciones silvestres de topillo nival en España.

A nivel europeo sí se ha trabajado más sobre las poblaciones silvestres de neverones, cubriendo aspectos sobre su ecología espacial (Nieder y Bocchini 1994; Locatelli y Paolucci 1999), su biología reproductiva y demografía (Bocchini y Nieder 1994; Locatelli y Paolucci 1996; Locatelli y Paolucci 1999; Yoccoz y Ims 1999), selección de hábitat (Janeau 1980; Krystufek y Kovacic 1989; Bocchini y Nieder 1994; Chiarenzi *et al.* 1997; Nappi 2002), diferencias bioquímicas entre poblaciones (Graf 1982; Chaline y Graf 1988; Filippucci *et al.* 1991), y muy destacadamente sobre diferencias morfológicas entre poblaciones (Peshev 1971; Terzea 1972; Kratochvil 1981; Krystufek 1990; Nadachowski 1991; Krystufek 1999). Las revisiones más completas sobre la especie se pueden encontrar en Le Louran y Janeau (1975), Krapp (1982) y Janeau y Aulagnier (1997). Como se puede observar a partir del conjunto de todas estas citas, prácticamente todos los aspectos de la historia del topillo nival han sido abordados, con mayor o menor profundidad. Sin embargo, se pueden señalar varios aspectos no del todo satisfactorios en la información que estos estudios aportan y que son fundamentalmente:

- la rudimentariedad de las técnicas y metodología aplicadas: la mayoría de los estudios datan de hace 30 o 40 años. Desde entonces los conocimientos científico-técnicos han avanzado mucho permitiendo el desarrollo de una metodología más eficiente y precisa, como pueden ser las técnicas en genética molecular, los sistemas de telemetría y complejos programas informáticos para la modelización de poblaciones.

- la inconsistencia de las áreas de estudio en las que se han cursado los trabajos. De modo que, por ejemplo, los trabajos morfológicos proceden en su mayoría de poblaciones de Turquía, la antigua Yugoslavia y Rumania, los de selección de hábitat se han realizado fundamentalmente en el Macizo Central francés, los de biología reproductiva en los Alpes,

etc, etc, etc... con lo que tenemos fragmentos de información dispersos de distintas localidades, pero carecemos de un hilo conductor que nos permita recomponer la historia vital completa del topillo nival en una localidad concreta, en la que podamos entender las interacciones entre los aspectos sociales y reproductivos de la especie, con los aspectos climáticos, las características del hábitat (disponibilidad de alimento, depredadores, etc...), aspectos geográficos y geológicos históricos y actuales del área de estudio, etc, etc, etc....

5. ESTA TESIS

En esta Tesis pretendemos, precisamente, emprender un estudio multidisciplinar e integrado sobre el topillo nival, en el que cubriremos aspectos sobre su ecología espacial, biología reproductiva y dinámica poblacional, etc... con el fin de poder entender el funcionamiento de la especie en su medio. El trabajo está centrado en Sierra Nevada, y Sistema Central, en donde el estudio se ha limitado al entorno del Pico de Peñalara. El estudio de estas dos localidades nos permitirá una aproximación comparativa, con la peculiar circunstancia de que S.Nevada constituye el límite más suroccidental del área de distribución mundial del topillo nival, seguido del Sistema Central.

La estructura de esta Tesis sigue un formato intermedio entre las tesis clásicas, en las que hay un hilo conductor que guía el contenido de principio a fin, y las tesis más modernas, constituidas por una serie de artículos más o menos relacionados entre sí. Así, la siguiente sección tras esta introducción general, ofrece una descripción de las áreas de estudio principales, que son comunes para el resto de los capítulos. Por su parte, estos capítulos mantienen la estructura interna de los artículos científicos, con los apartados de Introducción, Metodología, Resultados y Discusión, lo que hace que sean “autoexplicativos” e independientes entre sí.

5.1. CONTENIDO DE LOS CAPÍTULO

Dado que el trabajo lo hemos desarrollado fundamentalmente en dos localidades concretas, donde queremos comprender en profundidad el funcionamiento y las respuestas de las poblaciones de topillo nival, es fundamental conocer las características ambientales (abióticas y bióticas) de éstas áreas para poder integrarlas en la interpretación y discusión de los resultados. Así en la siguiente sección describimos las áreas de estudio, el Parque Nacional de Sierra Nevada y el Parque Natural de la Cumbre, Circo y Lagunas de Peñalara, haciendo una revisión sobre los aspectos más relevantes de su climatología, geografía, paleogeología, flora, fauna, etc...

En el **Capítulo 1** nos centramos en Sierra Nevada, donde, dada su situación limítrofe en el área de distribución del topillo nival y el marco teórico presentado, hacen que las poblaciones de neverones de esta localidad sean potencialmente más vulnerables en comparación con las de otras localidades más septentrionales. Por esta razón, nos proponemos evaluar el estatus de conservación de las poblaciones de topillo nival en Sierra Nevada, en base al estudio combinado de su distribución y abundancia en el entorno. El estudio de su *distribución* en el macizo nevadense abarca un objetivo doble: a) determinar su área de ocupación, y b) explorar las variables ambientales que condicionan la presencia de neverones en los canchales nevadenses. Por su parte, en el estudio sobre su abundancia, exploramos la *abundancia relativa* de neverones en S.Nevada, en comparación con la de otros núcleos poblacionales estudiados. Esta información nos servirá para evaluar el estado de conservación de las poblaciones nevadenses de topillo nival, así como de punto de referencia para conocer la tendencia poblacional en el futuro.

En los siguientes tres capítulos aumentamos la escala de trabajo para cubrir dos localidades, S.Nevada y Peñalara, en las que emprendemos una serie de estudios comparativos sobre la autoecología del topillo nival, centrándonos principalmente en los aspectos de biología reproductiva, dinámica poblacional y ecología espacial.

En S.Nevada, las condiciones de extrema aridez se añaden a la sequía estival mediterránea, y a unos inviernos muy largos debido a la altitud. Estos factores tienen sin duda un efecto sobre el periodo vegetativo, lo cual a su vez podría afectar el desarrollo, crecimiento y condición física de los animales que, como el topillo nival, sean herbívoros. Por ello en el **Capítulo 2**, nos centramos en el estudio del peso de los individuos y la evolución de este en el tiempo, para analizar y comparar los patrones de crecimiento individual y el tamaño de los adultos entre poblaciones. También desarrollamos en este capítulo criterios para la distinción entre las clases de edad en base al peso. Distinguimos así entre jóvenes (no reproductores) y adultos (reproductores), lo que nos da paso al estudio de diversos aspectos de su biología reproductiva como el momento de adquisición de la madurez sexual, la duración de la estación reproductora, las oscilaciones numéricas en la estructura de edad de la población, etc... Toda esta información nos permitirá reconstruir la estrategia vital de los topillos nivales en las poblaciones de estudio.

Si bien en el Capítulo 2 describimos cómo funcionan las poblaciones de topillo nival en términos *cualitativos*: qué hacen (reproducirse, nacer, crecer, adquirir la madurez sexual, morir...), cuándo (en primavera, verano, otoño...) y quienes (los jóvenes, los adultos, las hembras, los machos...); en el **Capítulo 3** estudiamos la población en términos *cuantitativos*: cuántos lo hacen. Así cuantificamos mediante modelos de captura-marcaje-recaptura (CMR) el número absoluto y densidad (total y por sexos) de los individuos que componen la población, así como otros parámetros poblacionales (e.g. tasa de supervivencia específica por edades para cada época del año, tasa de dispersión, etc...).

El **Capítulo 4**, destinado al estudio de la ecología espacial, está centrado en el análisis de las áreas de campeo de los individuos, su tamaño y el grado de solapamiento inter- e intrasexual. El uso y reparto del espacio entre los individuos de una población nos da idea del tipo de organización social y reproductiva de la misma. Si las poblaciones en S.Nevada son más laxas, porque en general, según el marco teórico expuesto anteriormente, la abundancia de una especie es menor según nos alejamos de su óptimo ecológico, entonces los patrones de ocupación espacial y organización social podrían verse alterados en las poblaciones de S.Nevada.

En los dos últimos capítulos, ampliamos aún más la escala de trabajo, para incorporar la información de otras poblaciones ibéricas de topillo nival en los nuevos objetivos que nos planteamos. Así, en el **Capítulo 5** estudiamos el perfil bioquímico sanguíneo del topillo nival a partir de individuos procedentes de varias localidades, con el fin de trabajar con una muestra lo más representativa posible de la condición de la especie. El análisis bioquímico sanguíneo de un animal puede poner de manifiesto carencias o afecciones metabólicas, con lo que es una herramienta muy útil para conocer el estado de salud de los individuos y las poblaciones, por comparación con los rangos de referencia bioquímicos de la especie. En este capítulo aportamos la primera aproximación al conocimiento de los valores de referencia bioquímicos del topillo nival, hasta ahora desconocidos, para poder utilizarlos en el futuro como herramienta de diagnóstico.

Por último, en el **Capítulo 6** utilizamos marcadores moleculares microsatélites para analizar las diferencias genéticas entre los principales núcleos poblacionales de topillo nival en España. Los cerca de 13,000 años que las poblaciones ibéricas de topillo nival llevan aisladas unas de otras han hecho que la especie diverja en subespecies locales que han sido vagamente caracterizadas en base a su morfología, pero nunca, como aquí hacemos, desde el punto de vista genético. Acabamos este capítulo dedicando especial atención a la población de neverones de S.Nevada. Sierra Nevada es la localidad ibérica más aislada geográficamente y, teniendo en cuenta la historia biogeográfica de la especie, también la más aislada temporalmente. A pesar de que estas condiciones predicen elevadas diferencias con otras localidades, su población nunca ha sido caracterizada. En este estudio evaluamos la identidad genética de las poblaciones de topillo nival de S.Nevada como argumento para su reconocimiento como subespecie.

La Tesis se cierra con los apartados de Síntesis y Conclusiones en los que se pretende dar una visión global de la especie dentro de los aspectos tratados, a la vez que destacamos los resultados más relevantes que han ido emergiendo en los distintos capítulos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Amori, G. (1999). *Chionomys nivalis* (Martins 1842). Pp. 256-257. En: Mitchell-Jones, A. J., Amori, G., Bogdanowicz, W., Krystufek, B., Reijnders, P. J. H., Spitzenberger, F., Stubbe, M., Thissen, M., Vohralík, V. y Zima, J. (eds.). *Atlas of European Mammals*. Academic Press, London, UK. 484 pp.
- Arribas, O. (2004). *Fauna y paisaje de los Pirineos en el era glacial*. Lynx Edición. Fundació Territori i Paisatge. Barcelona. 541 pp.
- Bocchini, M. y Nieder, L. (1994). Habitat preferences, structure and population dynamics of *Microtus nivalis* in the Northern Apennines. *Polish Ecological Studies (Pol. ecol. Stud.)*, 20 (3-4):115-121.
- Brown, J. H. (1984). On the relationship between abundance and distribution of species. *American Zoologist*, 21:877-888.
- Brown, J. H., Mehlman, D. W. y Stevens, G. C. (1995). Spatial variation in abundance. *Ecology*, 76(7):2028-2043.
- Burgos, M., Jiménez, R. y Díaz de la Guardia, R. (1988). Comparative study of G- and C-banded chromosomes of five species of Microtidae: a chromosomal evolution analysis. *Genome*, 30:540-646.
- Burgos, M., Olmos, D. M., Jiménez, R., Sánchez, A. y Díaz de la Guardia, R. (1990). Fluorescence banding in four species of Microtidae: an analysis of the evolutive changes of the constitutive heterochromatine. *Genética*, 81:11-16.
- Burkey, T. V. (1995). Extinction rates in archipelagos : implications for populations in fragmented habitats. *Conservation Biology*, 9:527-541.
- Carro, F., Blanco, B., Gigirey, A., Peña, P. y Rey, J. M. (1995). Presencia de *Microtus nivalis* en un medio mediterráneo de baja altitud en Galicia. Comunicación en panel. II Jornadas Españolas de Conservación y Estudio de Mamíferos, Soria 7-9 diciembre 1995.

- Cuenca Bescós, G. (2002). The micromammal record as proxy of palaeoenvironmental changes in the pleistocene of the Sierra de Atapuerca (Burgos, Spain). Pp. 133-138. En: Ruiz-Zapata, M. B., Dorado-Valiño, M., Valdeolmillos-Rodríguez, A., Gil-García, M. J., Bardají-Azcarate, T., De Bustamante-Gutierrez, I. y Martínez-Mendizabal, I. (eds.). *Quaternary Climatic Changes and Environmental Crises in the Mediterranean Region*. Alcalá de Henares, Madrid. 291 pp.
- Chaline, J. (1974). Esquisse de l'évolution morphologique, biométrique et chromosomique du genre *Microtus* (Arvicolide, Rodentia) dans le pleistocene de l'hémisphère nord. *Bull. Soc. Geol. France* 7, 16 (4):440-450.
- Chaline, J., Brunet-Lecomte, P., Montuire, S., Viriot, L. y Courant, F. (1999). Anatomy of the arvicoline radiation (Rodentia): palaeogeographical, palaeoecological history and evolutionary data. *Annales zoologici fennici*, 36:239-267.
- Chaline, J. y Graf, J. D. (1988). Phylogeny of the arvicolidae (Rodentia): Biochemical and paleontological evidence. *J. Mamm.*, 69 (1):22-23.
- Chiarenzi, B., Erra, L. y Cantini, M. (1997). Influence of some environmental parameters on small mammals (Rodentia, Insectivora) in the Central Alps *Hystrix*, (n.s.) 9 (1-2):57-60.
- Ewers, R. M. y Didham, R. K. (2006). Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological reviews*, 81:117-142.
- Filippucci, M. G., Fadda, V., Krystufek, B., Simson, S. y Amori, G. (1991). Allozyme variation and differentiation in *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Acta Theriologica*, 36 (1-2):47-62.
- Fragan, W. F. (2002). Connectivity, fragmentation, and extinction risk in dendritic metapopulations. *Ecology*, 83:3243-3249.
- Garzon-Heydt, J., Castroviejo, S. y Castroviejo, J. (1970). Notas preliminares sobre la distribución de algunos micromamíferos en el norte de España. *Saugetierk. Mh.*, 19:217-222.
- Gómez, A. y Lunt, D. H. (2006). Refugia within refugia: patterns of phylogeographic concordance in the Iberian Peninsula. Pp. 155-188. En: Weiss, S. y Ferrand, N. (eds.). *Phylogeography of Southern European Refugia*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Netherlands. 377 pp.

- Gómez Ortiz, A. (2002). *Mapa geomorfológico de Sierra Nevada. Morfología glaciar y periglaciar*. Consejería de Medio Ambiente, Parque Nacional y Natural de S.Nevada, Universidad de Barcelona Servei de gestió i evolució del paisatge. 86 pp.
- Graf, J. D. (1982). Génétique biochimique, zoogéographie et taxonomie des Arvicolidae (Mammalia, Rodentia). *Revue Suisse de Zoologie*, 89 (3):749-787.
- Gutiérrez Elorza, M. (2001). *Geomorfología climática*. Ed. Omega. 664 pp.
- Hermida, R. J. (2001). *Chionomys nivalis* (Martins, 1842), una nueva especie para la Sierra del Xistral. *Galemys*, 13(1):79-80.
- Irizar, I., González, J. y Villate, I. (2002). El topillo nival *Chionomys nivalis* en Euskal Herria. Distribución, selección de hábitat y uso del espacio. *Naturzale*, 17:133-143.
- Jaarola, M., Martinkova, N., Gunduz, I., Brunhoff, C., Zima, J., Nadachowski, A., Amori, G., Bulatova, N., Chondropoulos, B. y Fraguadakis-Tsolis, S. (2004). Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 33 (3):647-663.
- Janeau, G. (1980). Répartition écologique des micromammifères dans l'étage alpin de la région de Briançon. *Mammalia*, 44 (1):1-25.
- Janeau, G. y Aulagnier, S. (1997). Snow vole- *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Journal of Mountain Ecology*, 4:1-11.
- Krapp, F. (1982). *Microtus nivalis* (Martins, 1842)- Schneemaus. Pp. 261-283. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II.*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Kratochvil, J. (1981). *Chionomys nivalis* (Arvicolidae, Rodentia). *Acta Sc. Nat. Brno.*, 15 (11):1-62.
- Krystufek, B. (1990). Geographic variation in *Microtus nivalis* (Martins, 1842) from Austria and Yugoslavia. *Bonn. zool. Beitr.*, 41 (2):121-139.
- Krystufek, B. (1999). Snow voles, genus *Chionomys*, of Turkey. *Mammalia*, 63 (3):323-339.
- Krystufek, B. y Kovacic, D. (1989). Vertical distribution of the Snow vole *Microtus nivalis* (Martins, 1842) in Northwestern Yugoslavia. *Z. Säugetierk*, 54:153-156.

- Le Louran, H. y Janeau, G. (1975). Répartition et biologie du campagnol des neiges *Microtus nivalis* Martins dans la région de Briançon. *Mammalia*, 39 (4):589-604.
- Leisnham, P. T. y Jamieson, I. G. (2002). Metapopulation dynamics of a flightless alpine insect *Hemideina maori* in a naturally fragmented habitat. *Ecological Entomology*, 27:574-580.
- Locatelli, R. y Paolucci, P. (1996). L'arvicola delle nevi (*Microtus nivalis* Martins, 1842) nell'Italia nord orientale: biometrie, morfologia dentale e scelte dell'habitat. *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, 45:195-209.
- Locatelli, R. y Paolucci, P. (1999). Bio-ecologia di arvicola delle nevi *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) nelle Alpi orientali. *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, 48 (supplemento):221-224.
- Luque-Larena, J. J., Lopez, P. y Gosálbez, J. (2001). Scent matching modulates space use and agonistic behaviour between male snow voles, *Chionomys nivalis*. *Animal Behaviour*, 62:1089-1095.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002a). Levels of social tolerance between snow voles *Chionomys nivalis* during over-wintering periods. *Acta Theriologica*, 47 (2):163-173.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002b). Microhabitat use by the snow vole *Chionomys nivalis* in alpine environments reflects rock-dwelling preferences. *Canadian Journal of Zoology*, 80:36-41.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002c). Relative Dominance Affects Use of Scent-Marked Areas in Male Snow Voles *Chionomys nivalis*. *Ethology*, 108 (3):273-285.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002d). Responses of Snow Voles, *Chionomys nivalis*, Towards Conspecific Cues Reflect Social Organization during Overwintering Periods. *Ethology*, 108 (11):947-959.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2003). Male dominance and female chemosensory preferences in the rock-dwelling snow vole. *Behaviour*, 140 (5):665-681.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2004). Spacing behaviour and morphology predict promiscuous mating strategies in the rock-dwelling snow vole, *Chionomys nivalis*. *Canadian Journal of Zoology*, 82 (7):1051-1064.

- Meffe, G. K. y Carroll, C. R. (1997). *Principles of conservation biology*. 3rd edition. Sinauer. 673 pp.
- Megías-Nogales, B., Marchal, J. A., Acosta, M. J., Bullejos, M., Díaz de la Guardia, R. y Sánchez, A. (2003). Sex chromosomes pairing in two Arvicolidae species: *Microtus nivalis* and *Arvicola sapidus*. *Hereditas*, 138:114-121.
- Meylan, A. y Graf, J. D. (1973). Caryotype du campagnol des neiges, *Microtus nivalis* (Martins) en Europe occidentale (Mammalia, Rodentia). *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 71:441-446.
- Miller, S. (1908). The recent voles of the *Microtus nivalis* group. *Annals and magazine of Natural History*, 8 (1):97-103.
- Morales Agacino, E. (1936). Un nuevo *Microtinae* del centro de España. *Boletín de la Sociedad Española de Historia Natural*, 36:151-154.
- Moreno, E. y Barbosa, A. (1992). Distribution patterns of small mammal fauna along gradients of latitud and altitud in Northern Spain. *Z. Säugetierk*, 57:169-175.
- Nadachowski, A. (1991). Systematics, geographic variation, and evolution of snow voles (*Chionomys*) based on dental characters. *Acta Theriologica*, 36 (1-2):1-45.
- Nadachowski, A. (1992). Short-distance migration of quaternary and recent mammals: a case study of *Chionomys* (Arvicolidae). *Courier Forschungsinstitut Senckenberg*, 153:221-228.
- Nappi, A. (2002). Vertical distribution of the snow vole *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) (Rodentia, Arvicolidae) in Italy. *Hystrix*, 13 (1-2):45-52.
- Nieder, L. y Bocchini, M. (1994). The home range of *Microtus* (*Chionomys*) *nivalis* (Rodentia: Muridae). *Boll. Zool. Suppl.*, 56.
- Palomo, L. J., Vargas, J. M. y Jiménez-Gómez, M. P. (1994). Distribution patterns in Iberian Peninsula rodents. *Polish Ecological Studies (Pol. ecol. Stud.)*, 20(3-4):497-502.
- Peshev, T. (1971). Distribution and taxonomy of *Microtus nivalis* Martins (Mammalia) in Bulgaria. *Mammalia*, 34 (2):252-268.
- Primack, R. B. y Ros, J. (2002). *Introducción a la biología de la conservación*. Ariel Ciencia, Barcelona. 375 pp.

- Ruiz Bustos, A. y Padial, J. (1980). Datos sobre el *Microtus nivalis* (Martins, 1842) actual y fósil en Granada (Andalucía). *Cuadernos de Ciencias Biológicas. Universidad de Granada*, 6-7:87-94.
- Ruiz Bustos, A., Toro Moyano, I., Martín Suárez, E. y Almohalla Gallego, M. (1982). Procesos evolutivos durante el cuaternario medio y superior en las poblaciones de pequeños mamíferos del sur de la Península Ibérica. Condiciones climáticas que implican e importancia bioestratigráfica. *Cuadernos de Prehistoria de la Universidad de Granada*, 7:9-36.
- Soriguer, R., Carro, F., Márquez, F. J. y Fandos, P. (2003). Diversidad y abundancia de los micromamíferos ibéricos. Pp. 439-478. En: Pérez, J. M. (eds.). *In Memoriam al Prof. Dr. Isidoro Ruiz Martínez*. . Universidad de Jaén, Jaén.
- Terzea, E. (1972). Remarques sur la morphologie dentaire et la répartition de *Microtus nivalis* Martins dans le Pléistocène de Roumanie. *Trav. Inst. Spéol. "Emile Racovitza"*, 11:271-298.
- Vericad, J. R. y Meylan, A. (1973). Résultats de quelques piègeages de micromammifères dans le sud-est de l'Espagne. *Mammalia*, 37 (2):333-341.
- Watson, D. M. (2002). A conceptual framework for studying species composition in fragments, islands and other patchy ecosystems. *Journal of Biogeography*, 29:823-834.
- Wilson, D. E. y Reeder, D. A. M. (2005). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2142 pp.
- Yoccoz, N. G. y Ims, R. A. (1999). Demography of small mammals in cold regions: the importance of environmental variability. Pp. 137-144. En: Hofgaard, A., Ball, J. P., Danell, K. y Callaghan, T. V. (eds.). *Animal responses to global change in the north. Ecological Bulletins (47)*. Lund, Sweden. 187 pp.

**DESCRIPCIÓN DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO Y
MACIZOS MONTAÑOSOS A LOS QUE PERTENECEN**

DESCRIPCIÓN DE LAS ÁREAS DE ESTUDIO Y MACIZOS MONTAÑOSOS A LOS QUE PERTENECEN

1. PARQUE NATURAL Y NACIONAL DE SIERRA NEVADA	29
1.1. Situación y descripción general. Valores y figura de conservación	29
1.2. Origen de la diversidad botánica de Sierra Nevada	30
1.3. Pisos de vegetación y ecosistemas asociados	32
1.4. Clima	35
1.5. Área de estudio	37
2. PARQUE NATURAL DE LA CUMBRE, CIRCO Y LAGUNAS DE PEÑALARA	39
2.1. Situación y descripción general. Valores y figura de conservación	39
2.2. Los hábitats de Peñalara	40
2.3. Clima	42
2.4. Área de estudio	43
3. BIBLIOGRAFÍA	45

La mayor parte del trabajo de campo de esta tesis se ha desarrollado en el Parque Nacional de Sierra Nevada (Granada-Almería) y el Parque Natural de Peñalara (Madrid), cuya situación dentro de la Península Ibérica se muestra en la Figura 1b. Ofrecemos a continuación una visión general de las principales características ambientales, histórico-geológicas y climatológicas de ambos sitios de estudio, y finalizamos con una descripción más detallada de las colonias de estudio elegidas en cada localidad para realizar el seguimiento de la dinámica poblacional y la ecología espacial del topillo nival.



Figura 1b.- Imagen de satélite de la Península Ibérica con indicación de las zonas de estudio: el Parque Natural de la la Cumbre, Circo y Lagunas de Peñalara representado por el punto rojo, en la Comunidad de Madrid; y el Parque Nacional de Sierra Nevada, delimitado por el cuadro rojo, en Andalucía.

1. PARQUE NATURAL Y NACIONAL DE SIERRA NEVADA

1.1. SITUACIÓN Y DESCRIPCIÓN GENERAL. VALORES Y FIGURA DE CONSERVACIÓN

El macizo de Sierra Nevada es el núcleo central de la Cordillera Penibética (geológicamente conocida como las Zonas Internas de la Cordillera Bética), situada en el sur-sureste de la Península Ibérica. Con una superficie cercana a los 2000 Km², se extiende a lo largo de una franja longitudinal de 80 Km de largo por 35 Km de ancho máximo entre las provincias de Granada y Almería (Andalucía, España).

A tan sólo 44 Km de la costa mediterránea, Sierra Nevada representa el macizo más alto de Europa después de los Alpes, y alberga la cumbre más alta de la Península Ibérica, el pico Mulhacén con 3482m de altura. Otros picos cercanos en altitud son el Veleta (3392m) y el Alcazaba (3366m), entre otros. Son en total más de 15 cumbres las que rebasan, en Sierra Nevada, los 3000m de altitud, dispuestas en una línea continua de gran extensión que crea una división del macizo en dos grandes vertientes: la septentrional y la meridional. Los picos más altos se encuentran en la porción centrooccidental de este eje, mientras que la altitud de la línea de cumbres disminuye progresivamente hacia el este. La vertiente meridional se caracteriza por lomas suaves que bajan hacia la Alpujarra, mientras que en la vertiente septentrional, más abrupta, predominan las pendientes escarpadas (Jiménez Olivencia 1991; Gómez Ortiz 2002).

La historia geográfica, geológica, climática y biogeográfica de este entorno le han conferido un *paisaje geomorfológico muy singular* y una *riqueza florística excepcional*. En reconocimiento a estos valores naturales, Sierra Nevada fue declarada Reserva de la Biosfera por el programa MAB (Man and Biosphere) de la Unesco en 1986, y en 1989 Parque Natural por la Junta de Andalucía, con una extensión de 169,239 ha. Posteriormente, se declaró la máxima figura de protección para el corazón del parque, creándose así el Parque Nacional de Sierra Nevada que, con una extensión de 86,208 ha, cubre fundamentalmente las altas cumbres del macizo (Sánchez y Pino 2004).

La *singularidad geomorfológica* de las altas cumbres de Sierra Nevada debe su origen a la presencia, en diversos momentos fríos del Cuaternario (era que se inició hace

1.7 millones de años), de masas de hielo permanentes. Se trató de los glaciares más meridionales de Europa que modelaron el relieve de Sierra Nevada formando circos glaciares (localmente conocidos como corrales), y pequeñas lagunas glaciares. Entre los circos destacan por su buen estado de conservación los del corral del Veleta, de Río Seco, de Dílar y de Valdeinfierno, y entre las lagunas se pueden mencionar la de La Caldera, Aguas Verdes, Siete Lagunas, La Mosca, El Caballo, etc... Debido a su baja latitud, los glaciares en S.Nevada no tuvieron tanta extensión como en otros macizos más septentrionales, y se estima que el límite de las nieves permanentes se estableció en los 2400m (2600m en la cara sur) (Jiménez Olivencia 1991; Sánchez y Pino 2004). Tras el Würm (última glaciación), la actividad periglacial fue (y sigue siendo) muy intensa en las áreas situadas por encima de los 2000m, generando paisajes desoladores de pedregales, canchales y roquedos desnudos (Joaquín Molero Mesa *et al.* 1992).

En cuanto a la *riqueza y diversidad botánica* de Sierra Nevada hay que destacar la cuantiosa cifra de las 2,100 especies vegetales que han sido inventariadas en este entorno, casi el 30% de las existentes en la España peninsular, ocupando solo un 0.4% de la misma. Entre estas especies se han contabilizado 77 endemismos exclusivos, entre los que se pueden mencionar por ejemplo la estrella de las nieves *Plantago nivalis* y la manzanilla de la sierra *Artemisia granatensis* (Jiménez Olivencia 1991; Sánchez y Pino 2004).

1.2. ORIGEN DE LA DIVERSIDAD BOTÁNICA DE SIERRA NEVADA

Esta copiosa dotación florística de la que venimos hablando hace de Sierra Nevada el área de mayor riqueza biológica y endemidad de la Península Ibérica. La suma de factores de tipo biogeográfico, climático, geográfico y geológico están en la base del origen de la riqueza botánica de S.Nevada. Sintetizamos a continuación los factores determinantes más destacados (Sánchez y Pino 2004; Tinaut 2006b):

Por un lado los periodos de frío glacial del Cuaternario cubrieron de hielo gran parte de Europa, provocando el desplazamiento hacia el sur de las áreas de distribución de muchas especies vegetales, en busca de climas más templados. De este modo llegaron a

S.Nevada numerosas especies de distribución *eurosiberiana* que, hoy en día, forman los bosques de pinos (1800-2400m) y caducifolios (1500-1800m). E.g. *Pinus sylvestris* y roble melojo *Quercus pyrenaica*, respectivamente.

Junto a estas especies, también llegaron a S.Nevada especies de origen *alpino* y *ártico-alpino* que al retirarse los hielos, tuvieron bien que volver hacia el norte o ganar altitud en las montañas en busca de biotopos más frescos y lluviosos, y así se establecieron en las cumbres nevadenses. La distribución que hoy en día presentan estas especies recibe el nombre de disyunción ártico-alpina. E.g. *Papaver lapeyrousianum*, *Ranunculus glacialis*...

Por otro lado, S.Nevada ha funcionado como refugio de especies de la flora terciaria. Como se ha mencionado anteriormente este macizo montañoso estuvo relativamente poco afectado por los glaciares, permitiendo que en ciertos biotopos particularmente térmicos, como los barrancos profundos, quedasen acantonadas algunas especies vegetales de la era Terciaria y que hoy constituyen verdaderos *paleoendemismos*. E.g. malva de la Alpujarra *Lavatera oblongifolia*, *Santolina elegans*...

Mención aparte es el enriquecimiento, mucho tiempo atrás, de la flora nevadense con especies norteafricanas (del Rift y el Atlas), llegadas durante el periodo de unión física con África (hace unos 6 millones de años). E.g. *Crocus nevadensis*, *Arenaria pungens*...

Igual de importante que la gran cantidad de especies que de un modo u otro llegaron hasta S.Nevada procedentes de lugares muy diversos, es el hecho de que pudieran establecerse permanentemente, lo cual se produjo gracias a la diversidad de medios que presenta S.Nevada. Esta diversidad de condiciones ambientales que se registran en S.Nevada son fruto del amplio gradiente altitudinal (casi desde el nivel del mar hasta las máximas alturas peninsulares), de la variedad de climas (atemperado en zonas basales hasta casi polar en las cotas más elevadas), de su compleja topografía (que permite a las especies refugiarse en barrancos profundos o laderas umbrías, solanas más térmicas, fisuras entre rocas donde la competencia entre especies es menor, etc...), etc...

A este puzzle de factores determinantes del alto grado de diversidad botánica de S.Nevada hay que añadir el aislamiento geográfico de este macizo con respecto a otros biotopos similares, lo que ha supuesto la evolución independiente de las poblaciones nevadenses, dando lugar a *nuevas subespecies o especies endémicas* (Gómez y Lunt 2006). Muchas plantas endémicas de Sierra Nevada son el resultado de la adaptación específica a los rigores del clima y el medio inhóspito de las cumbres.

1.3. PISOS DE VEGETACIÓN Y ECOSISTEMAS ASOCIADOS

Como ya se ha apuntado, la gran amplitud altimétrica de esta sierra condiciona una variabilidad escalonada de gradientes climáticos, lo que hace que Sierra Nevada sea la única cordillera peninsular en cuyo territorio tienen cabida cinco de los seis pisos bioclimáticos reconocidos en la región Mediterránea (Joaquín Molero Mesa *et al.* 1992). Es de resaltar que la diferencial influencia de la insolación en las vertientes septentrional y meridional de Sierra Nevada hace que la distribución de los pisos de vegetación no sea simétrica, y que los cambios de vegetación se produzcan a menor altitud en la cara norte. Describimos a continuación las comunidades vegetales asociadas a cada uno de estos pisos, así como sus especies indicadoras a partir de la información compilada de: Sánchez y Pino (2004), Gómez Ortiz (2002) y <http://waste.ideal.es/primerasierranevada.htm>.

El termotipo *termomediterráneo* se localiza de forma puntual en la cara sur del Parque, llegando hasta los 600-700m. Este piso bioclimático está delimitado por tomillares y otras comunidades pertenecientes a la serie de los encinares termófilos, así como por los cultivos de cítricos y subtropicales. Son especies propias el algarrobo *Ceratonia siliqua*, la alhucemilla *Lavandula multifida*...

El *mesomediterráneo* asciende hasta los 1100m (1300m en la vertiente sur), y se caracteriza por la presencia de retama *Retama sphaerocarpa*, jaguarzo *Cistus clusii*, romero *Rosmarinus officinalis*, y esparto *Macrochloa tenacissima*, entre otras. En este piso y en el siguiente se desarrollan los ecosistemas de media montaña, en los que dominan los bosques naturales o de repoblación o sus etapas de degradación, siendo estos:

- Melojares *Quercus pyrenaica*, que se extienden desde los 1100m (1200m) hasta los 1800 (1990m) en suelos ácidos y con un mayor aporte hídrico que el encinar. Sus etapas sucesionales coinciden prácticamente con las de los encinares.
- Encinares de *Quercus rotundifolia*, que se desarrollan desde los 1500m (1600m) hasta los 1900 (2000m). La degradación de este tipo de bosque en suelos relativamente húmedos lleva a la aparición de espinales (escaramujos, majuelos, agracejo, endrino....), mientras que en suelos secos es sustituido por escobonales o retamales. En etapas de degradación más avanzadas aparecen las jaras, tomillo, aulaga....y los lastonares (formaciones de gramíneas perennes).
- Pinares que se extienden por debajo de los 1900m. El pino endémico de S.Nevada es el *Pinus sylvestris* subsp. *nevadensis*, no obstante también hay parches discretos de *P.halepensis*, *P.pinaster* y *P.nigra*, así como grandes superficies de pinares de repoblación.

El piso *supramediterráneo* se extiende desde los 1200m aprox. hasta los 1800m (1950m), altitud en la que desaparecen las comunidades de encinares y melojares. Las especies propias de este piso son el piorno azul o cojín de monja *Erinacea anthyllis*, el agracejo *Berberis hispanica* y la jara laurifolia *Cistus laurifolius* entre otras.

El piso *oromediterráneo* comienza a partir de los 1900m hasta los 2900m aproximadamente. En este piso domina el enebro-piornal, ecosistema de montaña caracterizado por especies arbustivas de porte rastrero y almohadillado. La comunidad más desarrollada la forman los enebros *Juniperus communis* subsp. *hemisphaeric*, la sabina *Juniperus sabina* y el piorno amarillo *Genista versicolor*. El piorno negro *Cytisus galianoi* y el piorno rosa *Hormathophylla spinosa* también son comunes.

Por último, el piso *crioromediterráneo* se extiende a partir de los 2850m (3000m). En las altas cumbres predomina un paisaje de escarpes y pedregales, en el que la vegetación es muy escasa, no obstante se distinguen dos tipos de formaciones vegetales:

- Pastizales psicroxerófilos, adaptados al frío y sequedad de la alta montaña. Se trata de pastos secos que no llegan a recubrir más que un escaso porcentaje del suelo, y en los que las especies dominantes son *Festuca indigesta* y *Festuca clementei*. Entre las especies de porte arbustivo destacan el piorno rosa *Hormathophylla purpurea*, sobre suelos pobres y el arándano negro *Vaccinium uliginosum* subsp. *nanum*, sobre suelos desarrollados.
- Borreguiles: se trata de ecosistemas higrófilos, de distribución muy focalizada allí donde las aguas de fusión tienden a permanecer encharcadas y caracterizados por la presencia permanente de agua (excepto en invierno que permanecen heladas), lo que representa un contraste ecológico importante en relación con los pedregales y pastizales secos que dominan el paisaje en esas cotas. Predomina el cervuno *Nardus stricta* y con una distribución más periférica la estrella de las nieves *Plantago nivalis*. Se trata de enclaves muy frágiles para cuyo mantenimiento se debe controlar la presión de herbivoría. En S.Nevada, además de los herbívoros silvestres, representados exclusivamente por la cabra montés ibérica *Capra pyrenaica*, hay una carga ganadera de peso, en la que domina el ganado ovino y caprino, y en menor medida el vacuno.

Aunque probablemente no sea el espacio más adecuado, es necesario mencionar también la existencia de la estación de esquí de S.Nevada por sus múltiples impactos potenciales y reales sobre la biodiversidad de S.Nevada. Se trata de la estación de esquí más meridional de Europa, en funcionamiento desde 1964 y situada en el valle de Monachil, la cabecera del río Dílar y el Pandero del Veleta. Tiene más de 60 Km de pistas esquiabiles, y los días de máxima afluencia se pueden superar los 10,000 visitantes (<http://www.cetursa.es/>). El número de visitantes va aumentando de temporada en temporada, y una vez que se retira la nieve de zonas de excesiva afluencia de visitantes, como el complejo residencial de Pradollano y la Hoya de la Mora, presentan un aspecto lamentable por la cantidad de basura arrojada (Joaquín Molero Mesa *et al.* 1992). Igual o más grave es el riesgo de que la construcción no planificada de nuevas pistas de esquí y su mantenimiento puedan provocar la destrucción de ecosistemas muy específicos y la desaparición de algunos endemismos de estas sierras (Joaquín Molero Mesa *et al.* 1992).

1.4. CLIMA

Como hemos mencionado más arriba, el gradiente altitudinal de S.Nevada permite la existencia de un rango térmico muy amplio. Por ello, en este apartado nos vamos a centrar en la caracterización climática de la alta montaña, pues es en este medio donde se localizan los topillos nivales en Sierra Nevada. Los ecosistemas de alta montaña se caracterizan por la ausencia de árboles, pero sobre todo por una presión atmosférica reducida (relacionada con la altitud y consecuencia de la acción de la gravedad). La disminución de la presión atmosférica tiene asociada una serie de características abióticas, como son una radiación solar más elevada, mayor tasa de insolación, aire más limpio y transparente, menor disponibilidad de oxígeno, vapor de agua (y resto de gases atmosféricos), mayor tasa de evaporación, descenso térmico del aire, etc... (Tinaut 2006a). Todas estas características también se manifiestan en el ecosistema de la alta montaña de Sierra Nevada.

Vamos a basar la caracterización climática de este medio en la información obtenida a partir de la estación meteorológica de Pradollano, situada a 2507m de altitud y gestionada por el Instituto Nacional de Meteorología (INM). Según el diagrama climático de esta estación (c.f. Figura 2b-izquierda), la temperatura y precipitación media anual, en un periodo de 15 años de observación es de 3.9°C y 696mm (equivalente a l/m²), lo que la sitúa en un termotipo frío y un ombrotipo subhúmedo (Rivas-Martínez y Rivas Sáenz 1996-2008).

En la Figura 2b-izquierda podemos observar que en la cota 2510 la temperatura es inferior a los 0 grados desde noviembre hasta mediados de abril, lo que supone inviernos largos y fríos, con unas temperaturas medias mínimas próximas a los 8°C bajo cero. En cotas superiores, la temperatura puede descender de los 15°C bajo cero y los vientos son persistentes y con frecuencia violentos, no siendo raros los días en los que el viento alcanza velocidades muy altas (100 = Km/hora) (Gómez Ortiz 2002).

En cambio, los veranos resultan cortos y registran temperaturas suaves (media de las máximas 21.3°C) pero con fuerte insolación, debido a que la radiación solar es muy alta en los meses de estío dada la nitidez de la atmósfera. Las temperaturas de verano presentan unas amplitudes y oscilaciones térmicas diarias muy acusadas, favorecidas por la escasa humedad del aire, pues la precipitación resulta muy parca, de ahí, la prolongada aridez. Propio de la región mediterránea, los veranos se caracterizan por la sequía estival, que en S.Nevada se extiende desde mediados de junio hasta principios de septiembre (c.f. Figura 2b-izquierda).

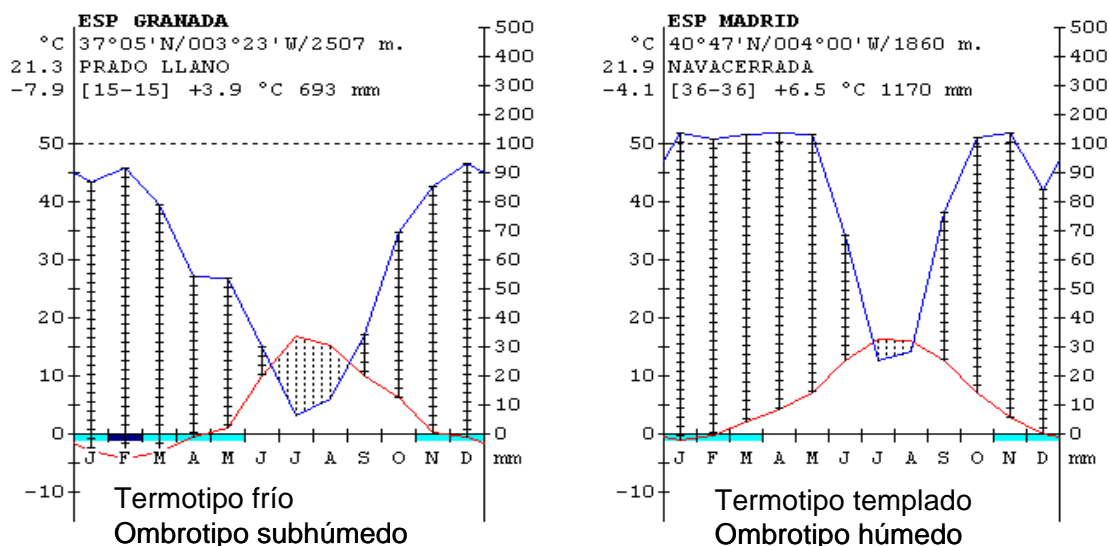


Figura 2b.- Diagramas climáticos de la estación meteorológica de Prado Llano (Granada), a la izquierda, y del Puerto de Navacerrada (Madrid), a la derecha. Para cada estación se indica sus coordenadas y su altitud, así como el periodo de observación térmica y pluviométrica, entre corchetes. A continuación consta la media de las temperaturas y precipitaciones anuales. A la izquierda del primer eje vertical se incluye la temperatura media de las máximas (meses más cálidos) y la temperatura media de las mínimas (meses más fríos). La curva roja corresponde a las temperaturas y se lee sobre el eje izquierdo, mientras que la azul corresponde a la precipitación y se lee sobre el eje derecho. La franja azul brillante indica el periodo de helada. La sequía estival queda representada en el área de solapamiento entre la curva de temperaturas y de precipitación.

En los medios de montaña, la precipitación nivosa es muy importante en términos cuantitativos. Así, más del 75% de las precipitaciones se producen en forma de nieve por encima de los 2000m, y el 95% por encima de los 2500m (Joaquín Molero Mesa *et al.* 1992). El periodo en que la nieve cubre el suelo oscila, según la orientación y exposición al viento, entre los 4 ó 5 meses (a 2000m de altura) y los 9 meses (a partir de los 3000m). El periodo de helada se mantiene desde noviembre hasta mayo en la estación meteorológica de Pradollano (a 2507m).

En conclusión, tenemos que en la alta montaña de Sierra Nevada (a partir de los 2400-2500m) se producen unas condiciones extremas de frío y aridez. Si lo comparamos con la zona de estudio de Peñalara, cuya descripción abordaremos en la sección apropiada, estas condiciones se traducen en un periodo de heladas de siete meses (vs. cinco en Peñalara) y una sequía estival de algo más de dos meses (vs. uno en Peñalara), lo que sin duda está reflejando una condiciones más hostiles y limitantes para el periodo de crecimiento y actividad vegetal en S.Nevada que en Peñalara.

1.5. ÁREA DE ESTUDIO

En Sierra Nevada hemos trabajado sobre dos escalas espaciales. Por un lado, hemos determinado la distribución del topillo nival a escala global, es decir, sobre toda la superficie del macizo nevadense. Por otro lado, los trabajos de seguimiento más fino sobre la dinámica poblacional y la ecología espacial de la especie han sido realizados a una escala menor, centrando el esfuerzo en un área concreta. Este área de estudio está circunscrita al entorno del cerro del Mojón de Trigo (2606m de altitud), donde se situó en sus días el antiguo observatorio astronómico de S.Nevada. Nos situamos pues, en la parte occidental del parque, por encima del Albergue Militar de la Hoya de la Mora.

El estudio se centró en el canchal de grandes bloques de roca situado en la cara nororiental (Figura 3b) y los dos canchales, de menores dimensiones, situados en la cara opuesta del cerro. Se trata de canchales de micaesquistos con granates (Gómez Ortiz 2002), de aristas muy agudas, y situados en la cota de los 2500m. El canchal principal,

con unas dimensiones aproximadas de 115*40m, lo constituyen rocas de mediano (40cm de diámetro aprox.) y gran tamaño (hasta 2m de diámetro), que forman una matriz tridimensional de hasta 2.5m de profundidad en algunos puntos. Los dos canchales periféricos, tienen unas dimensiones más reducidas (15*10m aprox.) y dominan los bloques de piedra con un diámetro inferior a 1m.

Los tres canchales están bastante bien delimitados en un paisaje de escasa vegetación, entre la que destacan matorrales de enebro *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica*, y sabina *Juniperus sabina*, acompañados de pequeñas matas de piorno rosa *Hormathophylla purpurea* y rosetones dispersos de gramíneas duras y secas, en su mayoría *Festuca indigesta*.



Figura 3b.- Área principal de estudio de Sierra Nevada. Se trata del canchal situado en la ladera nororiental del Mojón del Trigo, a 2550m de altitud. En la cima se pueden observar los restos del antiguo observatorio astronómico.

Otras especies de animales que se pueden encontrar en los canchales de S.Nevada son el ratón de campo *Apodemus sylvaticus*, el lirón careto *Eliomys quercinus* y la musaraña común *Crocidura russula*. Además pueden visitar los canchales en busca de presas la comadreja *Mustela nivalis*, la garduña *Martes foina* y el zorro *Vulpes vulpes*. En los enebrales, la víbora hocicuda *Vipera latastei* también puede suponer una amenaza para los neverones. Por último, no hay que olvidar mencionar a los herbívoros, cabras (silvestres y domésticas) y ovejas que, en grandes grupos, van apurando los brotes de herbáceas frescas. La habilidad de movimientos y salto de estos herbívoros les permite saltar por las rocas de los canchales y acceder hasta los más mínimos rebrotes que crecen protegidos entre las piedras desgarrándolos casi a ras de suelo. Más información sobre la fauna nevadense puede encontrarse en Joaquín Molero Mesa *et al.* 1992.

2. PARQUE NATURAL DE LA CUMBRE, CIRCO Y LAGUNAS DE PEÑALARA

2.1. SITUACIÓN Y DESCRIPCIÓN GENERAL. VALORES Y FIGURA DE CONSERVACIÓN

El Parque Natural de Peñalara está integrado en la Sierra de Guadarrama, perteneciente al Sistema Central y geográficamente está situado entre las provincias de Madrid y Segovia (España). El pico Peñalara (2428m s.n.m.) constituye el punto más alto de la Sierra de Guadarrama.

El entorno del Macizo de Peñalara es uno de los espacios naturales cuyo valor ecológico fue reconocido más tempranamente en la historia del conservacionismo español. Ya en 1930 fue declarado Sitio Natural de Interés Nacional en atención a su ejemplar geomorfología glaciar, y en 1990 se reclasificó su categoría de protección, pasando a denominarse Parque Natural de la Cumbre, Circo y Lagunas de Peñalara, mediante la Ley 6/1990 de la Comunidad de Madrid, teniendo por objeto la conservación de los ecosistemas más representativos de la alta montaña de la región (Granados *et al.* 2006).

Su protección se ve justificada por la rica diversidad biológica (tanto florística como faunística) y la singularidad de sus hábitats. Con tan sólo 768 hectáreas de superficie, este Parque Natural es uno de los rincones que mejor representa los ecosistemas de alta montaña de la Sierra de Guadarrama. Entre sus valores más significativos se encuentran la presencia de un rico y variado mosaico de hábitats, la existencia de numerosas especies singulares, además de un extraordinario conjunto geomorfológico de origen glaciar.

En el entorno del Parque Natural de Peñalara se pueden contabilizar 331 especies de plantas vasculares, 141 de líquenes saxícolas, 135 de vertebrados y 91 mariposas diurnas. Esta notable riqueza específica descansa sobre la elevada diversidad de hábitats del Parque de Peñalara (Prieto Cana y de Lucio 1993). A la diversidad de hábitats contribuyen por un lado los procesos asociados al fuerte gradiente altitudinal, y por otro, los factores locales de tipo geomorfológico, climático, edáfico e hidrológico. De especial importancia en la configuración actual que hoy vemos en Peñalara es el modelado que el macizo sufrió por el desarrollo de los glaciares cuaternarios.

Hace unos 18000 años, los hielos cubrían esta zona con un espeso manto de hasta 300 metros de grosor. Tras los sucesivos procesos de expansión, avance y retroceso de los hielos, cuando definitivamente se retiraron quedó a la vista un modelado glaciar de gran valor por su riqueza, en el que destacan los circos glaciares de Dos Hermanas y de la Laguna Grande de Peñalara por el buen estado de conservación de las estructuras de origen glaciar. Entonces, la dinámica periglacial y torrencial sustituyeron a la glaciar, y se generaron las turberas en las hoyas -la antigua zona cubierta por la lengua de hielo- y grandes canchales por gelifracción, en los circos (<http://www.parquenaturalpenalara.org>). Hoy en día, estas lagunillas, turberas, canchales y roquedos son unidades funcionales fundamentales de y para la biodiversidad del Parque.

2.2. LOS HÁBITATS DE PEÑALARA

En Peñalara se han descrito y cartografiado 15 tipos de hábitats, clasificados en tres grupos en base a la vegetación y geomorfología (Prieto Cana y de Lucio 1993):

- ecosistemas forestales:

Se sitúan desde las partes más bajas del parque (1640m s.n.m.) hasta los 1900m. Corresponden con el piso oromediterráneo inferior y están dominados por pinares naturales de *Pinus sylvestris*, praderas en la zona de pinar y abedulares en enclaves relictos (no existentes estos últimos dentro de los límites actuales del parque).

- ecosistemas supraforestales:

Hasta los 2000m de altitud, y correspondiendo con el piso oromediterráneo superior, destaca por la superficie ocupada por el matorral de ladera constituido por piorno serrano (*Cytisus purgans*).

Por encima de este nivel el enebro rastrero (*Juniperus communis* subsp. *alpina* y *J. communis* subsp. *hemisphaerica*) sustituye al piorno, y el estrato herbáceo lo conforman los pastizales psicroxerófilos (adaptados a lugares fríos y secos) que constituyen la vegetación potencial climatófila del piso crioromediterráneo. La comunidad florística está dominada por la graminoide *Festuca indigesta* que encespeda el suelo.

- ecosistemas azonales:

A diferencia de los dos grupos anteriores que reflejan procesos asociados al gradiente altitudinal, los ecosistemas de tipo azonal están condicionados fuertemente por factores locales de tipo geomorfológico, edáfico y por los flujos de humedad. Suponen pues discontinuidades que se intercalan entre las unidades zonales, aumentando con ello la heterogeneidad y diversidad paisajística de Peñalara.

En este grupo de ecosistemas azonales se pueden distinguir, a su vez, dos agrupaciones, los hábitats ligados al agua, y los de tipo rocoso. Entre los primeros destacan las numerosas charcas, lagunas y lagunillas naturales (algunas permanentes y en su mayoría temporales) de origen glaciar de las que se han inventariado más de 240 (Granados *et al.* 2006), además de las abundantes turberas. Por su parte, entre los hábitats rocosos podemos encontrar diversas formaciones de origen glaciar y periglaciar, como roquedos, canchales o gleras de grandes bloques y pedreras de cantos. El conjunto de los hábitats de tipo rocoso conforma la segunda unidad con mayor superficie (26.5%) del

Parque, precedida del matorral de piornal que ocupa el 46% del mismo (Prieto Cana y de Lucio 1993).

2.3. CLIMA

En este apartado se sintetiza la información meteorológica disponible, con el objeto de caracterizar climáticamente la zona de estudio. La estación meteorológica del Instituto Nacional de Meteorología (INM) más cercana a la zona de estudio es la del Puerto de Navacerrada, situada a unos 6-7 Km de distancia y a 1860m de altitud. Esta estación, por la calidad de los datos ofertados y su continuidad histórica (operativa desde mediados del siglo XX), nos ha permitido conocer con precisión las condiciones climatológicas de la zona.

Desde un punto de vista climático, el área analizada está enmarcada en las características del piso oromediterráneo, con temperaturas medias anuales entorno a los 6.5 °C y una precipitación media anual de 1170mm (equivalente a $1/m^2$) (c.f. 2b-derecha), lo que hace que se caracterice por un termotipo templado y un ombrotipo húmedo (Rivas-Martínez y Rivas Sáenz 1996-2008).

Según el registro de datos de la estación meteorológica de referencia, la media de las temperaturas máximas del mes más cálido es de 21.9°C, mientras que la media de las temperaturas mínimas del mes más frío baja a -4.1°C, medidos a lo largo de un periodo de observación de 36 años. En el diagrama climático (c.f. Figura 2b-derecha) se puede observar que el periodo de helada se extiende cinco meses, desde noviembre a diciembre, mientras que la sequía estival, característica del clima mediterráneo, se concentra en un mes, desde mediados de julio hasta mediados de agosto.

A pesar del marcado carácter de continentalidad debido a su situación geográfica, y de los fuertes contrastes térmicos entre las altas temperaturas estivales y la dureza de los inviernos con heladas muy frecuentes, Peñalara presenta un clima significativamente más atemperado que S.Nevada. Esta “benevolencia” climática se traduce en un periodo de

actividad vegetal que se extiende siete meses, desde abril a octubre, mientras que en S.Nevada el crecimiento vegetativo se restringe a cinco meses, desde junio hasta octubre (Rivas-Martínez y Rivas Sáenz 1996-2008).

2.4. ÁREA DE ESTUDIO

A diferencia de en S.Nevada, que trabajamos a una escala global y de detalle, en Peñalara nuestro trabajo ha estado siempre focalizado en un área concreta donde hemos realizado el seguimiento continuo de una colonia de topillo nival. Dentro del singular espacio del Parque Natural de Peñalara, el área elegida para desarrollar el trabajo de campo fue un canchal de bloques de piedra de mediano y gran tamaño situado en el margen occidental de la Laguna Grande (Figura 4b) y que en el pasado fue descrito con las siguientes palabras: “Es el dantesco y ruinoso circo de la Laguna Grande, lugar donde se aprecia la destructora acción de la intemperie. El caótico canchal no es otra cosa que las ruinas de muros, cornisas y crestas que los cambios de temperatura y el hielo han hecho saltar en pedazos”, según Carlos Vidal y Box, en su libro “Macizo de Peñalara. Descripción geográfico-geológica e itinerarios” (1931) (referencia completa en Granados *et al.* 2006).

La Laguna Grande, así como el canchal, están situados en la cota de los 2020m, bajo el Pico Peñalara y en la falda del Refugio del Zabala. Desde el primer muestreo exploratorio que realizamos pudimos constatar que había una población de topillos nivales bien establecida en la zona, y además se trata de una zona con un acceso relativamente fácil, lo que refuerza su adecuación.

El canchal en realidad se extiende de forma prácticamente continua alrededor de toda la laguna, aunque nosotros mantuvimos el área de estudio limitada por la malla de trampeo, con unas dimensiones aproximadas de 60*70m, con el fin de mantener una superficie de trabajo de dimensiones equivalentes a la zona de estudio de S.Nevada.



Figura 4b.- Área de estudio de Peñalara. Se trata del canchal que se extiende entorno a la Laguna Grande de Peñalara, situada a 2020m de altitud.

Al igual que en el resto del parque los bloques rocosos son de gneis, y sus tamaños oscilan entre los 20cm y más de 2m de diámetro, creando una profunda matriz de huecos y corredores entre las piedras por donde se deslizan los neverones. Hay abundantes parches de vegetación en los que el suelo queda cubierto por un estrato herbáceo dominado por *Festuca indigesta* y en menor medida por *Deschampsia flexuosa*. Asimismo hay matas de enebro rastrero dispersas y algunas otras plantas que colonizan los canchales, como helechos (*Cryptogramma crispa*) y especies fisurícolas (*Senecio pyrenaicus*, *Digitalis purpurea*, *Leontodon hispidus*...).

Otras especies que acompañan al topillo nival en los canchales de Peñalara son: ratón de campo *Apodemus sylvaticus*, lirón careto *Eliomys quercinus*, musaraña ibérica *Sorex granarius*, comadreja *Mustela nivalis*. Entre los herbívoros silvestres sólo está presente en el parque el corzo *Capreolus capreolus*, pero no suele abandonar la protección

del bosque con lo que no sube hasta las cotas de los canchales. Por otro lado, el parque también aloja un reducido número de cabezas de ganado, bovino y caballar, que pastan libremente en los prados de montaña, pero que no llegan a adentrarse en las zonas de canchal, a diferencia de las cabras (silvestres y domésticas) y ovejas de S.Nevada. Un listado completo de las especies de vertebrados que habitan en el Parque Natural de la Cumbre, Circo y Lagunas de Peñalara puede consultarse en Prieto Cana y de Lucio 1993.

3. **BIBLIOGRAFÍA**

- Gómez, A. y Lunt, D. H. (2006). Refugia within refugia: patterns of phylogeographic concordance in the Iberian Peninsula. Pp. 155-188. En: Weiss, S. y Ferrand, N. (eds.). *Phylogeography of Southern European Refugia*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Netherlands. 377 pp.
- Gómez Ortiz, A. (2002). *Mapa geomorfológico de Sierra Nevada. Morfología glaciar y periglaciar*. Consejería de Medio Ambiente, Parque Nacional y Natural de S.Nevada, Universidad de Barcelona Servei de gestió i evolució del paisatge. 86 pp.
- Granados, I., Toro, M. y Rubio-Romero, A. (2006). *Laguna Grande de Peñalara. 10 años de seguimiento limnológico*. Serie Técnica del Medio Natural. Consejería de Medio Ambiente y ordenación del territorio. Comunidad de Madrid. 185 pp.
- Jiménez Olivencia, Y. (1991). *Los paisajes de Sierra Nevada. Cartografía de los sistemas naturales de una montaña mediterránea*. Monografías tierras del sur. Servicio de publicaciones de la Universidad de Granada. Anexos + 208 pp.
- Joaquín Molero Mesa, J., Pérez Raya, F. y Valle Tendero, F. (1992). *Parque Natural de Sierra Nevada. Paisaje, fauna, flora e itinerarios*. Editorial Rueda, Madrid. 520 pp.
- Prieto Cana, D. y de Lucio, J. V. (1993). *Patrimonio ecológico del Parque Natural de Peñalara*. Serie Documentos nº11. Centro de Investigación de Espacios Naturales Protegidos Fernando González-Bernáldez. Agencia de Medio Ambiente de la Comunidad de Madrid. Anexos + 127 pp.

Rivas-Martínez, S. y Rivas Sáenz, S. (1996-2008). Phytosociological Research Center, Spain. <http://www.globalbioclimatics.org>. Página web actualizada en Enero 2008. Consulta del 03/02/2008.

Sánchez, J. y Pino, J. (2004). *Parque Nacional de Sierra Nevada. Guía de visita*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales. 296 pp.

Tinaut, A. (2006a). *La Alta Montaña*. En Proyecto Andalucía. Serie Naturaleza. Zoología. Tomo XIX. Ed. Publicaciones Comunitarias, Sevilla. Capítulo 7. 276-308 pp.

Tinaut, A. (2006b). *Zoogeografía. Fauna Andaluza*. En Proyecto Andalucía. Serie Naturaleza. Zoología. Tomo XIX. Ed. Publicaciones Comunitarias, Sevilla. Capítulo 2. 70-122 pp.

www.parquenaturalpenalara.org. Consulta del 27/02/2008

www.cetursa.es. Consulta del 03/03/2008

www.waste.ideal.es/primerasierranevada.htm. Consulta del 03/03/2008

ESTATUS DE CONSERVACIÓN DE LAS
POBLACIONES DE TOPILLO NIVAL
(*Chionomys nivalis*) EN SIERRA NEVADA:
DISTRIBUCIÓN, SELECCIÓN DE HÁBITAT Y
ABUNDANCIA RELATIVA

ESTATUS DE CONSERVACIÓN DE LAS POBLACIONES DE TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*) EN SIERRA NEVADA: DISTRIBUCIÓN, SELECCIÓN DE HÁBITAT Y ABUNDANCIA RELATIVA

1. INTRODUCCIÓN.....	50
2. METODOLOGÍA.....	53
2.1. Determinación del área de distribución del topillo nival en Sierra Nevada	53
2.1.1. Área de estudio	53
2.1.2. Métodos de muestreo.....	54
2.2. Construcción del modelo predictivo de distribución del topillo nival en S.Nevada ..	60
2.2.1. Caracterización de las localidades.....	60
2.2.2. Análisis estadístico: Regresión logística	64
2.2.2.1. Selección de variables, ajuste y evaluación del modelo.....	65
2.3. Abundancia relativa a través del índice de capturabilidad	67
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
3.1. Distribución actual del topillo nival en Sierra Nevada.....	69
3.2. Modelo de selección de hábitat del topillo nival en S.Nevada.....	74
3.2.1. Resultados: ¿qué factores determinan la ocupación de los canchales de S.Nevada por el topillo nival?.....	74
3.2.2. Interpretación.....	77
3.3. Índices de abundancia de topillo nival en las colonias de Sierra Nevada y comparación con otras localidades.....	86
4. CONCLUSIONES.....	89
5. BIBLIOGRAFÍA	91

1. INTRODUCCIÓN

El topillo nival o neverón *Chionomys nivalis* (Martins 1842) es una especie relictica de la época glaciaria que en la actualidad presenta una distribución muy discontinua por la mitad septentrional del paleártico occidental (Krapp 1982; Nadachowski 1991b; Amori 1999; Wilson y Reeder 2005), donde se localiza fundamentalmente en los principales macizos montañosos, aunque también se conocen poblaciones a baja altitud en el sur de Europa (Nappi 2002). (El mapa de distribución mundial de la especie se puede consultar en la Figura 1 de la Introducción General). En todos los casos es una especie cuya distribución se restringe a hábitats de tipo rocoso (e.g. canchales, pedregales...) (Le Louran y Janeau 1975; Janeau 1980; Krapp 1982; Janeau y Aulagnier 1997; Luque-Larena *et al.* 2002).

En la Península Ibérica se distinguen cinco grandes núcleos poblacionales localizados respectivamente en Pirineos, Cordillera Cantábrica, Sistema Ibérico, Sistema Central y Sierra Nevada. El macizo de Sierra Nevada, en el Sistema Bético (SE Península Ibérica), representa el límite más suroccidental del área mundial de distribución del neverón (Vericad y Meylan 1973; Wilson y Reeder 2005), pero lejos de haber suscitado este hecho un interés intrínseco por conocer hasta donde abarcan los dominios de los neverones en las montañas nevadenses, la verdad es que hasta la fecha su presencia en el Parque Nacional de Sierra Nevada está únicamente basada en un escaso número de citas (Vericad y Meylan 1973; Ruiz Bustos y Padial 1980).

Las poblaciones nevadenses de *C.nivalis* fueron descubiertas hace unos 35 años (Vericad y Meylan 1973) y desde entonces los neverones de S.Nevada han sido objeto de estudios de sistemática, genética y evolución de microtininos (Ruiz Bustos y García Sánchez 1977; Ruiz Bustos y Padial 1980; Burgos *et al.* 1988; Burgos *et al.* 1990; Megías-Nogales *et al.* 2003; Marchal *et al.* 2004; Acosta *et al.* 2007). Sin embargo, al no ser el fin de estos estudios conocer los límites de la distribución de la especie en el macizo nevadense, las citas sobre su localización no han sido registradas con detalle, y en la práctica nos ceñimos pues, básicamente a dos fuentes de información que aportan citas de la presencia de *C.nivalis* en Sierra Nevada, y que son:

1. Registros de la Colección de la Estación Biológica de Doñana (EBD, Sevilla), cuyas citas de localización se corresponden prácticamente con las que Luque-Larena y Gosálbez (2002) reflejan en el mapa de distribución de la especie.
2. Registros de la Colección del Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN, Madrid)

Los ejemplares registrados en sendas colecciones científicas proceden de los muestreos de inventariado que ambos centros de investigación llevaron a cabo durante las décadas de 1970 y 1980.

La primera de estas fuentes de información indica que el topillo nival está presente en siete cuadrículas UTM de 10x10 km del entorno de Sierra Nevada, todas ellas situadas en la región granadina de la sierra (30SVG50, 30SVG60, 30SVG61, 30SVG70, 30SVG71, 30SVG80 y 30SVG90); mientras que la segunda sólo aporta datos de presencia para el municipio de Capileira, en la Alpujarra Granadina (Figura 1-1):

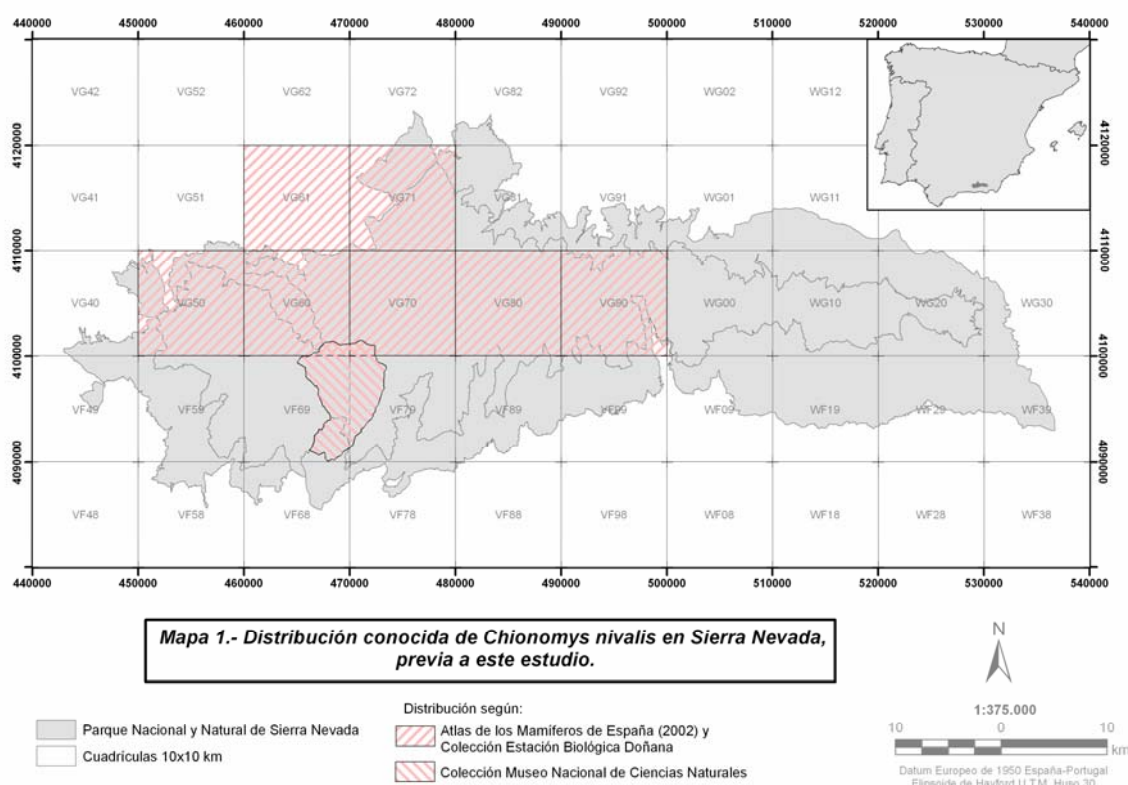


Figura 1-1.- Distribución conocida del topillo nival en Sierra Nevada, previa a este estudio.

Proyectadas sobre un mapa de Sierra Nevada las áreas de presencia de topillo nival que recogen éstas fuentes podemos observar que (c.f. Figura 1-1):

- los datos de presencias son muy groseros y poco precisos, pues no indican localidades concretas, sino que se refieren a términos municipales o cuadrículas UTM 10x10 km
- solo aportan información sobre parte del área potencial de distribución de la especie, no existiendo datos para el resto de la superficie de la sierra.

Además no existe uniformidad de criterios entre las dos fuentes, pues ni se aplicó la misma metodología y esfuerzo de muestreo ni hacen referencia a la misma escala o unidad de superficie (cuadrículas de 10x10 km *versus* superficie del municipio de Capileira).

Estos aspectos ponen en evidencia la necesidad de hacer un estudio dirigido, detallado y pormenorizado sobre la distribución del topillo nival en Sierra Nevada. El **primer** objetivo de este capítulo, es por tanto, determinar el área de ocupación del topillo nival en esta localidad límite de su distribución. Nuestros estudios parten de que el topillo nival está siempre asociado a hábitats rocosos (tipo canchales), en concreto, los neverones seleccionan hábitats con una cobertura rocosa próxima al 80%, constituida por piedras estables y con un diámetro mínimo de unos 20cm. (Le Louran y Janeau 1975; Janeau 1980; Bocchini y Nieder 1994; Irizar *et al.* 2002; Luque-Larena *et al.* 2002). Partiendo de este “perfil” de hábitat, nos proponemos como **segundo** objetivo definir un modelo predictivo que nos ayude a cuantificar en qué modo las características abióticas y bióticas de los canchales y hábitats rocosos de S.Nevada determinan que estén ocupados o no por topillo nival. Por último, la mayor dificultad experimentada durante el trabajo de campo para capturar topillos nivales en S.Nevada nos hace sospechar que este núcleo poblacional alberga menos topillos en relación con otras áreas de España en las que también hemos realizado trampeos. Con la idea de confirmar (o refutar) esta percepción, nos proponemos como **tercer** objetivo evaluar la abundancia relativa de topillo nival en las colonias de Sierra Nevada en relación con las colonias de otros macizos montañosos ibéricos.

El reducido tamaño del núcleo poblacional de S.Nevada, su elevado aislamiento y su posición geográfica en el límite suroccidental de su área de distribución mundial confieren a las poblaciones de topillo nival nevadenses un interés especial, así como una

mayor vulnerabilidad frente a potenciales eventos estocásticos. Por eso, aunque el estatus de conservación de la especie a nivel mundial sea de “Riesgo menor, casi amenazada, Ln/nt” (Lower Risk, Near threatened) (UICN 2007) y para el conjunto de España también esté considerada como “Casi amenazada, Nt” (Near threatened) (Pérez-Aranda *et al.* 2007), las poblaciones nevadenses de topillo nival, sin embargo, están catalogadas como “En peligro, En” (Endangered) (Soriguer y Palomo 2001). La información que obtengamos en este estudio sobre su distribución y abundancia relativa en el macizo nevadense nos permitirá reevaluar el estatus de conservación de la población de topillo nival en S.Nevada en base a los criterios de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza).

2. METODOLOGÍA

2.1. DETERMINACIÓN DEL ÁREA DE DISTRIBUCIÓN DEL TOPILLO NIVAL EN SIERRA NEVADA

2.1.1. Área de estudio

En un principio, por motivos administrativos, el estudio estaba circunscrito al área del Parque Nacional de Sierra Nevada, aunque posteriormente se decidió incluir también el Parque Natural de Sierra Nevada, que se extiende a menor altitud como un cinturón periférico. De esta manera el estudio se ha realizado sobre todo el macizo nevadense que abarca cerca de 170,000 ha, de las cuales 86,000 corresponden al Parque Nacional y 83,000 al Parque Natural.

Con el fin de que todo el área de estudio fuese prospectada homogéneamente, se subdividió en cuadrículas de 10x10 Km coincidentes con las cuadrículas UTM en huso 30 y consideramos como área de estudio todas aquellas que solaparon, al menos parcialmente, con alguno de los dos espacios protegidos (30 cuadrículas). El objetivo que nos planteamos en el muestreo de campo fue prospectar todas las cuadrículas de este conjunto si en ellas aparecían hábitats adecuados para la especie. Para ello realizamos un muestreo estratificado adaptativo centrando el esfuerzo de muestreo en los parches de hábitat

potencial para el topillo nival, es decir, hábitats de tipo rocoso, como canchales, pedregales y morrenas estables, fundamentalmente, aunque también tajos y cortados rocosos.

Para la localización y elección de los hábitats adecuados de cada cuadrícula utilizamos: (a) la capa de SIG “Veget_mmesa” (campo “Leyenda” = “canchales y pedregales”), desarrollada por J. Molero Mesa (Catedrático del Dpto. de Biología Vegetal de la Universidad de Granada), y proporcionada por el Parque Nacional de Sierra Nevada; (b) las ortofotos digitales de Andalucía de la Junta de Andalucía (vuelo de 1998-1999; hojas MTN 1010, 1011, 1027, 1028, 1029, 1042); y (c) entrevista a pastores, montañeros y agentes forestales del Parque Nacional y de la Consejería de Medio Ambiente. El Laboratorio de Sistemas de información geográfica y Teledetección de la Estación Biológica de Doñana (LAST-EBD) nos ayudó a visualizar la información cartográfica digital de Sierra Nevada.

2.1.2. Métodos de muestreo

Este estudio sobre la distribución del topillo nival en Sierra Nevada se realizó durante las temporadas de campo (primavera-verano) de 2004 y 2005. Utilizamos técnicas de muestreo, tanto de tipo directo (fundamentalmente basadas en el uso de trampas de vivo) como indirecto (basadas en la búsqueda de indicios que delatan la presencia de la especie) para determinar la presencia de topillo nival en cada localidad prospectada:

- Detección directa de *C.nivalis*

Pusimos en práctica diversas técnicas de tipo directo que nos permitieron constatar la presencia de neverones. Así por ejemplo, utilizamos **controladores de huellas**, para lo que utilizamos CDs ahumados con hollín, y con un trozo de manzana que servía de cebo, acoplado en el agujero central del CD, y los escondíamos entre las piedras del canchal. Los animales, al acercarse a comer, dejan marcadas las huellas en la película de hollín. Posteriormente, el estudio de estas permitiría distinguir a la especie que las imprimió, teniendo en cuenta que, por su tamaño y forma, las huellas de topillo nival son fáciles de diferenciar de las del resto de los roedores con los que convive en Sierra Nevada. Sin embargo este método no fue completamente efectivo, pues las huellas que dejaban los

animales quedaban superpuestas unas a otras, o eran borradas por el roce del propio cuerpo, de modo que en la mayoría de las ocasiones fue imposible determinar a qué especie pertenecieron las huellas, pudiendo sólo confirmar que se trataba de huellas de micromamíferos (Figura 1-2).

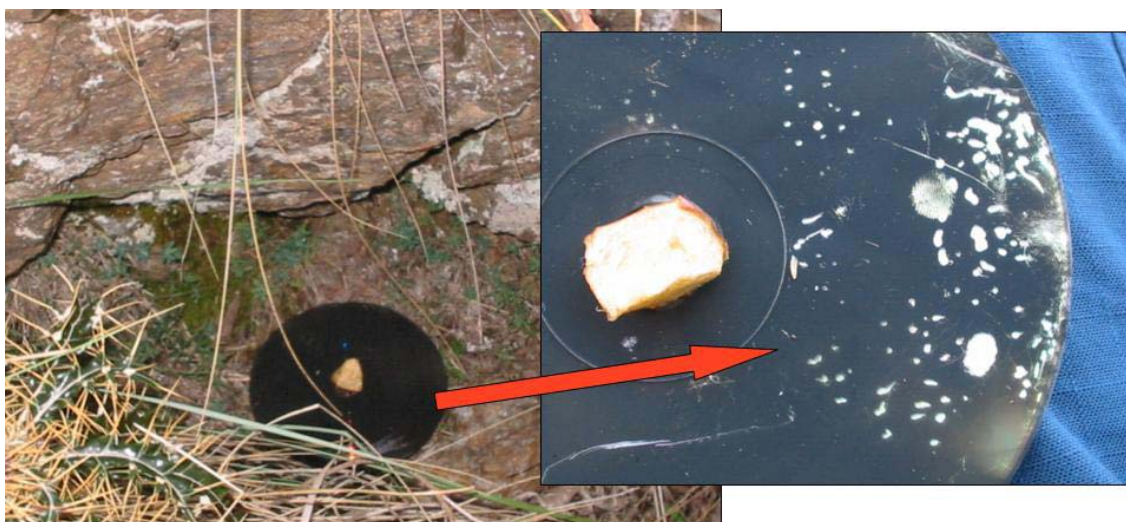


Figura 1-2.- Controlador de huellas confeccionado con un CD ahumado con hollín y un trozo de manzana como cebo. En la foto de la derecha se pueden observar alguna huellas confusas de micromamíferos.

También probamos el **trampeo fotográfico**, para lo que modificamos el mecanismo de disparo de cámaras (Canon, Prima Zoom 80u –Date–) añadiendo un circuito eléctrico externo de activación mecánica, al que ensamblamos un trozo de alambre de cuyo extremo opuesto pendía un cebo (trozo de manzana o de pan mojado en aceite de oliva). De este modo, cuando el animal manipula o intenta retirar el cebo, la señal mecánica se transmite hasta la cámara y se dispara la foto (Figura 1-3). El Dr. J. Herranz, de la Universidad Autónoma de Madrid, nos asesoró y ayudó a modificar las cámaras.



Figura 1-3.- Cámara modificada para el trampeo fotográfico. En este caso el cebo se colocó en el interior de una trampa para fotografiar qué animal podía acceder al mismo desde el exterior de la misma. El objetivo era determinar qué animal era capaz de acceder a una presa en el interior de la trampa.

Lamentablemente el trampeo fotográfico tampoco resultó especialmente efectivo, pues aunque a diferencia del trampeo de los animales en vivo, tiene la gran ventaja de que las cámaras pueden quedarse en el campo “trabajando por nosotros”, sin necesidad de revisarlas diariamente, la eficacia y duración del cebo es limitada. Es decir, pasados dos o tres días el cebo se seca y ya no huele, con lo que no atrae a los animales y es necesario reemplazarlo. No obstante, la mayor dificultad en el uso de las cámaras fue ubicarlas correctamente en las oquedades de las rocas de los canchales y centrar el punto de enfoque sobre el cebo, donde acudirían los animales, sin mirar por el visor!!. A estas dificultades hay que añadir, además, el coste económico de las cámaras, y el riesgo de que se estropeen debido a la lluvia o a la humedad.

La **captura de ejemplares mediante trampas de vivo** fue sin duda el método directo más eficaz para determinar la presencia de topillos. No obstante, también es el que implica un mayor esfuerzo y tiempo. Establecimos un protocolo de 15 trampas por canchal, activas durante tres noches consecutivas y revisadas al anochecer y al amanecer (Delany 1981; Gurnell y Flowerdew 1990). Utilizamos trampas de tipo Sherman (Sherman Traps Inc. Tallase, USA) por su ligereza (son de aluminio) y porque son plegables, lo que facilita su transporte. El tamaño intermedio, con unas medidas de 23 x 7.5 x 8.5 cm es apropiado para la captura de topillos nivales. Este tipo de trampas tiene una única vía de entrada que conduce a una plataforma sobre la que se coloca el cebo. El peso del animal sobre la plataforma hace que el resorte se dispare y la puerta se cierre, quedando éste encerrado en el interior (Figura 1-4).

Las trampas se cebaron con pan con aceite de oliva como cebo olfativo, manzana para paliar la sed y pipas o pienso para roedores como suplemento energético en los meses más fríos. Asimismo se proveyeron de algodón como material térmico para anidar y evitar la hipotermia, y su exterior se forró con plástico transparente de cocina para impedir la entrada de agua de lluvia o de rocío por las aristas de la trampa.

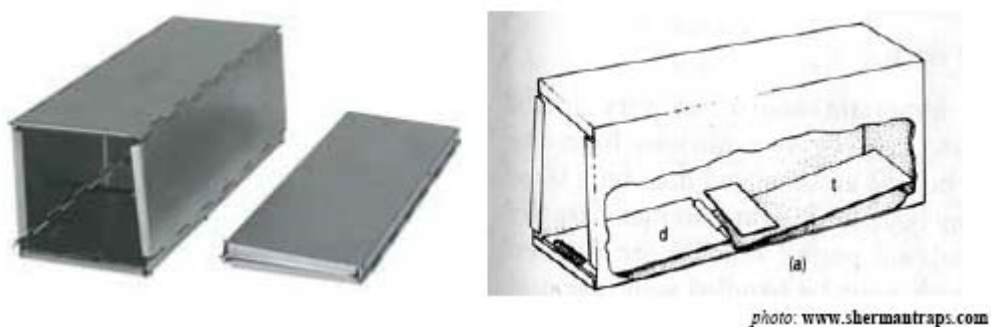


Figura 1-4.- A la izquierda se muestra una trampa Sherman montada, con la puerta abierta y al lado una trampa plegada. El dibujo de la derecha muestra el mecanismo de cierre mediante resorte de la trampa. d) puerta, t) plataforma que al ser pisada dispara el muelle que cierra la puerta. Tomado de www.shermantraps.com

Detección de *C.nivalis* a través de indicios

Debido a las limitaciones logísticas, de personal y de tiempo no siempre fue posible seguir los procedimientos para la detección directa de neverones, por lo que también recurrimos a los métodos indirectos para determinar su presencia.

En los hábitats adecuados, la detección de poblaciones de esta especie se basó en la búsqueda de indicios de dos tipos: (1) excrementos aislados o formando letrinas y (2) almacenes de alimento formados por tallos de herbáceas y/o de matorrales (Krapp 1982; Janeau y Aulagnier 1997; Moreno y Balbontín 1998).

1) Los excrementos de topillo nival son los típicos de los microtinós: cilíndricos, de extremos redondeados, constituidos exclusivamente por materia vegetal y lo suficientemente blandos como para ser deshechos con los dedos. Son de color verde oscuro cuando son frescos, pero toman tonos pajizos a medida que se secan y envejecen (Figura 1-5). Por el contrario, los excrementos de los ratones de campo (*Apodemus sylvaticus*), roedor coexistente con el topillo nival, no tienen una forma ovalada tan regular, son más negros, duros y difíciles de deshacer y presentan un brillo oleoso característico. Además, a menudo presentan restos no vegetales. Por su parte, los excrementos del lirón careto (*Eliomys quercinus*), también habitante del hábitat rocosos típicos de los neverones, se caracterizan por su alto contenido en materia animal (restos de élitros de escarabajos, y fragmentos de quitina), su mayor tamaño y su forma irregular. La ausencia de otras especies de la subfamilia en los hábitats del topillo nival limita la posibilidad de confusión.

2) Por su parte, los almacenes o acumulaciones de alimento están formadas por fragmentos de tallos de gramíneas, generalmente, con un corte en bisel característico (Figura 1-6). No hay en el entorno nevadense otro animal que almacene herbáceas de esta manera.

Establecimos un esfuerzo de 20 minutos para una superficie aproximada de 20*20m por canchal para la búsqueda de ambos tipos de indicios entre los huecos de las piedras y en la base de la vegetación circundante de cada canchal. En las primeras 10 prospecciones ampliamos el tiempo de búsqueda, llegando a doblarlo en ocasiones. En

ningún caso este tiempo extra nos sirvió para encontrar evidencias cuando tampoco habían sido localizadas en los 20 min. originales, con lo que mantuvimos ese tiempo como medida del esfuerzo de búsqueda aplicado.



Figura 1-5.- Excrementos de topillo nival en la base de la vegetación circundante al canchal, y en las piedras del mismo.



Figura 1-6.- Almacenes de herbáceas y *Cytisus* sp. característicos de *C. nivalis*.

2.2. CONSTRUCCIÓN DEL MODELO PREDICTIVO DE DISTRIBUCIÓN DEL TOPILLO NIVAL EN S.NEVADA

2.2.1. Caracterización de las localidades

Cada uno de los 100 canchales muestreados fue caracterizado mediante la toma de una serie de parámetros de tipo físico, biológico, geológico, bioclimático, etc... Asimismo se tomó información detallada de su localización y acceso. La lista de variables para cada canchal se completó con una serie de campos en los que se indica el tipo de muestreo efectuado (trampeo/búsqueda de indicios) y el resultado del mismo (captura si/no, indicios si/no), con el fin de poder relacionar las variables anteriores con la presencia/ausencia de topillo nival en cada canchal. La base de datos completa se puede consultar en (Pérez-Aranda *et al.* 2006).

A continuación se describe el contenido de cada campo (o variable) de la base de datos resultante:

- ▶ ID_localidad: código identificativo de cada localidad, formado por el nombre de la cuadrícula UTM de 10x10 Km en la que se encuentra, seguida de tres dígitos (e.g. 30SVG50-002 = localidad 2 de la cuadrícula UTM 10x10 Km 30SVG50).
- ▶ Nombre_toponimia: nombre coincidente con el topónimo de la zona o, en caso de no existir, del más cercano basándose en los mapas del Parque Nacional de Sierra Nevada de la editorial Penibética (escala 1:50.000) y o en el Mapa Topográfico Digital de Andalucía (escala 1:10.000).
- ▶ UTM10x10: cuadrícula UTM de 10x10 Km del huso 30 en la que se sitúa la localidad.
- ▶ Término Municipal en el que se sitúa la localidad según el Mapa Topográfico Digital de Andalucía (escala 1:10.000).
- ▶ Provincia en la que se sitúa la localidad.
- ▶ XproyED50: coordenada X de la posición de la localidad en Datum Europeo de 1950, zona 30N Iberia.
- ▶ YproyED50: coordenada Y de la posición de la localidad en Datum Europeo de 1950, zona 30N Iberia.

► Altitud (en metros) a la que se sitúa la localidad según el MDT (Modelo Digital del Terreno) del Parque Nacional y Natural de Sierra Nevada proporcionado por el Parque Nacional para su uso en el programa ArcView 3.2.

► Pendiente (en porcentaje) de la localidad según el MDT del Parque Nacional y Natural de Sierra Nevada proporcionado por el Parque Nacional para su uso con el programa ArcView 3.2.

Si el valor que aparece en una determinada localidad es X, entonces:

$$X = \text{Tang } \alpha \cdot 100 \rightarrow \alpha = \text{Arctang } X$$

E.g. Si: $X = 55.73\%$, entonces $\alpha = \text{ArcTang } 55.73 = 30^\circ$

► Orientación (en grados): orientación o exposición de la localidad según el MDT del Parque Nacional y Natural de Sierra Nevada proporcionado por el Parque Nacional para su uso con el programa ArcView 3.2.

► Piso bioclimático: siguiendo la clasificación propuesta por Rivas-Martínez (1987) y asignado a cada localidad según la capa de SIG, denominada “Península”, campo “Cod_piso”, de descarga gratuita desde la página web del Ministerio de Medio Ambiente (www.mma.es). Categorías: piso meso-, supra-, oro- o crioromediterráneo.

► Serie vegetación: serie de vegetación del entorno de la colonia según la capa de SIG “Series_veget” proporcionada por el Parque Nacional de Sierra Nevada.

► Corología: subsector biogeográfico en el que se encuentra la localidad, siguiendo la sectorización propuesta por Rivas-Martínez (1987)

► Litología: tipo de roca que constituye la localidad según González-Tejero *et al.* (1992)

► Topografía: en función de la situación de la localidad en el relieve. La clasificación que se propone es la siguiente (Figura 1-7):

- Cascajar de ladera
- Cascajar en base de tajo
- Afloramiento rocoso aislado
- Ladera pedregosa
- Conjunto de afloramientos rocosos aislados
- Tajo con fisuras y desprendimientos

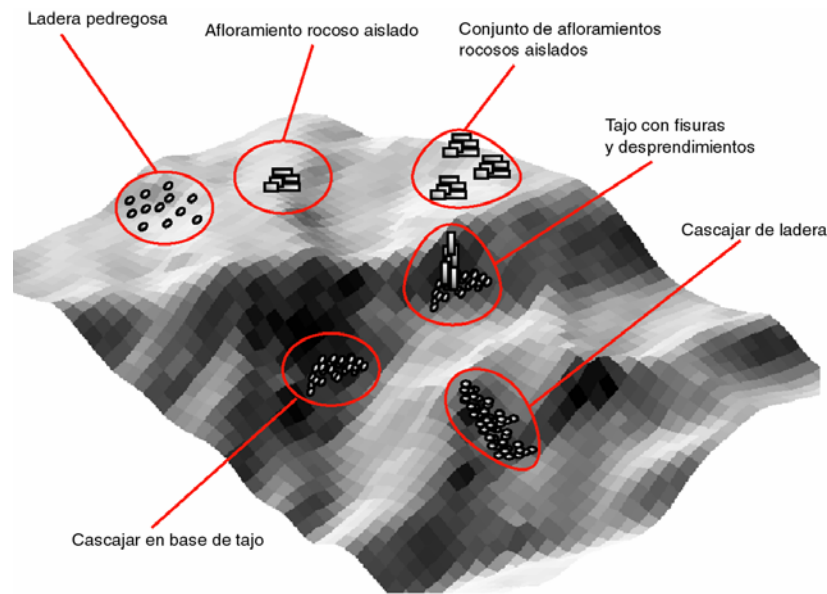


Figura 1-7.- Topografía de las localidades muestreadas para *C.nivalis*.

► Figura de protección donde se localiza la localidad según la capa de SIG “Sierra Nevada” (campo “Figura”), aportada por el Parque Nacional de Sierra Nevada. Las posibilidades son:

- Parque Nacional.
- Parque Natural.

► Uso suelo: indica el uso del suelo del entorno de la localidad. Para las situadas en el Parque Nacional la clasificación se corresponde con la capa SIG “Veget_mmesa” (campo “Leyenda”). Para las localidades situadas en el Parque Natural los datos proceden de la capa SIG “Uso y vegetación” (campo “Descripción”). Ambas capas han sido proporcionadas por el Parque Nacional.

► Sector del PNSN: se corresponde con el sector, a gran escala, en que se encuentra la localidad dentro del macizo nevadense. La asignación se basó en la capa SIG “Veget-mmesa” (campo “Sector”) proporcionada por el Parque Nacional de Sierra Nevada. Los sectores considerados son:

- Alpujarra occidental (cuadrante suroeste SO)
- Alpujarra oriental (cuadrante sureste SE)
- Poniente (cuadrante noroeste NO)
- Marquesado (cuadrante noreste NE)

► Resultado del muestreo: contiene el resultado de la prospección o los trampeos en cada localidad. Las posibles opciones son:

A. Presencias de topillo nival confirmadas mediante:

A.1. *Capturas*. Incluye las localidades en las que se capturó al menos un individuo. Cada sesión de captura tuvo una duración de 3 noches empleándose 15 trampas Sherman por noche. Las trampas se cebaron con pan impregnado en aceite de oliva, manzana y frutos secos y se proveyeron con algodón como material para nido. Fueron revisadas cada día al amanecer y al anochecer (Gurnell y Flowerdew 1990).

A.2. *Evidencias indirectas*. Incluye las localidades en las que se encontraron indicios característicos de la especie, fundamentalmente excrementos y almacenes de hierba cortada localizados entre las piedras y la vegetación periférica de cada canchal durante 20 minutos de prospección.

A.3. *Evidencias indirectas si – capturas no*. Incluye las localidades en las que habiéndose finalizado los trampeos sin capturas, sí se encontraron evidencias indirectas de la presencia de la especie (excrementos y/o almacenes de herbáceas).

B. Ausencias de topillo nival confirmadas mediante:

B.1. *No capturas*. Incluye las localidades en las que no hubo capturas durante los trampeos efectuados según el protocolo especificado más arriba.

B.2. *Prospecciones negativas*. Incluyen las localidades en las que no se encontraron evidencias indirectas de la especie en el tiempo previsto.

► Excrementos: indica el resultado de la prospección de excrementos de *C.nivalis* entre las rocas y periferia de la localidad durante 20 minutos. Es una variable redundante con respecto a la anterior, pero aporta información complementaria en los casos en los que se hayan encontrado excrementos y además se hayan capturado topillos.

► Presencia de topillos: indica la presencia (SI) o ausencia (NO) de *C.nivalis* a través de indicios o capturas.

► Otros roedores: indica la presencia confirmada mediante captura de otros roedores (*Apodemus sylvaticus* y *Eliomys quercinus*) durante los trampeos.

2.2.2. Análisis estadístico: Regresión logística

La regresión logística se engloba dentro de un grupo de modelos estadísticos denominados *modelos lineales generalizados* (generalized linear models – GLM). La técnica de la regresión logística permite predecir la respuesta de una variable dependiente discreta a partir de una o varias variables independientes, que pueden ser discretas, continuas, dicotómicas o una combinación de éstas. Generalmente la variable dependiente o respuesta es de tipo dicotómica, es decir solo permite dos alternativas (éxito/fracaso, enfermo/sano, presencia/ausencia). Los análisis discriminantes también se usan para predecir respuestas no dicotómicas, sin embargo sólo se pueden usar con variables independientes de tipo continuo.

Las características de nuestros datos, constituidos por una variable dependiente dicotómica (presencia/ ausencia de topillo nival), cuya respuesta queremos predecir, y una serie de variables independientes o predictoras continuas y categóricas (listado de variables de la sección anterior), hacen que la regresión logística sea el método más adecuado para construir un modelo que establezca la relación entre estas variables.

En la regresión logística la relación entre las variables no es de tipo lineal, es decir, la ecuación no responde a un polinomio de primer orden, sino que se trata de una *función logística* (Ecuación 1), de modo que para cualquier valor de z , $f(z)$ siempre tendrá valores entre 0 y 1. La función logística, por tanto, está específicamente diseñada para describir probabilidades, como por ejemplo en el presente caso, en el que queremos predecir la probabilidad de encontrar topillos nivales en un canchal caracterizado por un conjunto de variables. Este conjunto de variables, se puede describir como una ecuación lineal (Ecuación 2), que puede entrar en la función logística sustituyendo el término z . Tenemos así la ecuación que define el *modelo de regresión logística* (Ecuación 3). A su vez, el modelo logístico se expresa comúnmente de una manera alternativa, tomando logaritmos neperianos en ambos lados de la ecuación. Tras una serie de cálculos algebraicos, no presentados aquí, llegamos a la Ecuación 4, que relaciona el logaritmo neperiano de la probabilidad de que suceda el evento X (digamos, presencia de topillo nival), con una

suma lineal de las variables independientes (características de los canchales) y sus coeficientes (Kleinbaum 1994).

$$f(z) = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

Ecuación 1: Función logística

$$z = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 \dots \beta_k X_k = \alpha + \sum \beta_i X_i$$

Ecuación 2: relación lineal de var. independientes (X_i)
Donde: α = constante; β = coef. regresión logística

$$P(x) = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \sum \beta_i X_i)}}$$

Ecuación 3: Modelo logístico

$$\text{Logit } P(x) = \ln \frac{P(x)}{1 - P(x)} = \dots = \alpha + \sum \beta_i X_i$$

Ecuación 4: Modelo logístico expresado como Logit
Logit aplica logaritmos neperianos (ln) a la ecuación

2.2.2.1. Selección de variables, ajuste y evaluación del modelo

La variable dependiente de interés, codificada en el listado anterior como “presencia de topillos”, ofrece dos únicas respuestas: presencia de topillo nival en el canchal, o ausencia del mismo. Las *presencias* agrupan los resultados positivos tanto de los trampeos con capturas como de localización de indicios indirectos confirmados; por su parte, las *ausencias* reflejan la falta de capturas y/o indicios indirectos en cada localidad muestreada.

Entre las variables independientes listadas, muchas están de un modo u otro relacionadas con la *altitud*, y por tanto no aportan información independiente. Entre estas variables redundantes con la variables altitud, se encuentran por ejemplo, el *piso bioclimático*, la *serie de vegetación* o la *figura de protección* (ya que el Parque Nacional de Sierra Nevada está circunscrito a la zona de altas cumbres, rodeado por el Parque Natural a una cota más baja). Puesto que una de las suposiciones básicas de un análisis de regresión es la independencia de las variables, antes de empezar el análisis descartamos todas esas variables irrelevantes. Asimismo otras variables fueron eliminadas por falta de variabilidad, como por ejemplo la variable *litología*, en la que más del 95% de los datos se

correspondieron con el complejo Nevado-Filábride (caracterizado por micasquistos, pizarras y gneises), al que pertenece la mayor parte del macizo nevadense. En atención a la configuración geológica del macizo, los afloramientos del complejo Alpujárride, que forman la “orla caliza”, sólo aparecen muy puntualmente en la cuenca del Geníl (Dornajo, Trevenque, Sabinillas) y están formados por arenales dolomíticos en los que los canchales están casi completamente ausentes (Martínez Parras *et al.* 1987; González-Tejero *et al.* 1992), de ahí la poca variabilidad de este factor. Las variables de *localización* (código identificador de la localidad, provincia, municipio, etc...) tampoco fueron incluidas por carecer de significado ecológico.

Esta preselección nos llevó a reducir sustancialmente el número de variables para quedarnos finalmente con siete variables: tres variables continuas (altitud, pendiente y orientación) y cuatro variables discretas (uso del suelo, sector, topografía y presencia de otros roedores). La descripción de estas variables se puede consultar en el listado de la selección anterior. Para facilitar los cálculos y la interpretación del modelo, las 12 categorías que originalmente constituían la variable uso del suelo fueron agrupadas en cinco, siendo éstas: Enebral-piornales (*Genisto-Juniperetum nanae*), Roquedos y pedregales, Pastizales psicroxerófilos (*Ptilotrichion purpurei*, *Hieracio-Plantaginion radicatae*), Matorral (piornal, retamar, cantuesal, tomillar...) y Zonas arboladas (pinos de repoblación, robledales...).

Utilizamos el programa de regresión no lineal SYSTAT 7.0 para ir incorporando paso a paso las variables preseleccionadas y comprobar el ajuste del modelo tras la adición (o eliminación) de cada una de ellas. Este procedimiento por pasos, o escalonado (tanto *forward* como *backward*) nos permitió conocer la contribución de cada variable al modelo, de modo que descartamos aquellas variables que no contribuyeron significativamente al modelo (menos de un 5%). La selección del modelo logístico se basa en el método de *maximun likelihood*, que maximiza la probabilidad de que los valores observados de la variable dependiente se puedan predecir a partir de los valores observados de las variables independientes (Garson 2008). Por último probamos la existencia de relaciones aditivas, interactivas y cuadráticas entre las variables. Los términos interactivos se introducen cuando se cree que la influencia de una de las variables sobre la probabilidad de que ocurra

el suceso (presencia) puede variar en función del valor que asuma otra de las variables incluidas en el modelo. Entonces hay que incluir una variable nueva que represente la interacción de las anteriores (Domínguez Alonso y Aldana Padilla 2001). Ninguna de las interacciones mejoró el modelo. Para el modelo seleccionado se calculó el porcentaje de clasificaciones correctas y si esta clasificación era significativamente mejor que una al azar. Para ello realizamos un *likelihood ratio test* que prueba la significación del modelo frente a un modelo base o reducido en el que todos los coeficientes de regresión logística (las betas) son cero. Valores de $p < 0.05$ indican que la inclusión de las variables explicativas en el modelo mejoran la predicción de la variable respuesta en comparación con un modelo nulo (Titus *et al.* 1984; Garson 2008). Por último se comprobó la bondad del modelo ajustado mediante el test de Hosmer-Lemeshow. Esta prueba estratifica la probabilidad predicha de las observaciones en 10 grupos (o deciles), y posteriormente subdivide cada categoría según el resultado realmente observado (presencia o ausencia). Después la prueba evalúa, mediante un chi-cuadrado, que tal se ajustan los resultados observados a los esperados. Si el modelo es bueno, la mayoría de los eventos con éxito (i.e. canchales con presencias de topillo nival) debería haberse clasificado en los deciles de mayor probabilidad, mientras que aquellos con fracaso (ausencia de topillo nival), deberían dominar en los deciles de menor probabilidad. En los modelos bien ajustados el test de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow debe presentar valores de $p > 0.05$, indicando que la predicción del modelo no difiere significativamente de los valores observados (Garson 2008).

2.3. ABUNDANCIA RELATIVA A TRAVÉS DEL ÍNDICE DE CAPTURABILIDAD

La mayor dificultad con la que hemos obtenido capturas de neverones en S.Nevada, en comparación con otros macizos montañosos en los que hemos trabajado con la especie nos ha llevado a plantearnos un estudio comparativo sobre la abundancia del topillo nival en distintas áreas. Como aproximación a esta ambiciosa cuestión, hemos realizado una evaluación de la *abundancia relativa* para cada canchal o colonia muestreada, a través del índice de capturabilidad (Pucek 1981), y posteriormente lo hemos comparado con los índices obtenidos para otras poblaciones ibéricas de topillo nival.

El número de animales capturados en cada canchal (o colonia) es sólo una proporción de la población total, y puede variar en función de la distinta intensidad del comportamiento locomotor-exploratorio o del carácter más neofílico o neofóbico que presentan las distintas especies, grupos de edad o sexos. Esto lleva a que cada grupo muestre una respuesta distinta a las trampas, o lo que es lo mismo, una capturabilidad diferencial (Smith *et al.* 1975). La capturabilidad también puede verse influenciada por las características del hábitat, que harán que las trampas sean instaladas con una mayor o menor eficacia.

Ambas fuentes de variación, factores etológicos de los animales y fisionómicos del hábitat, quedan limitadas en el estudio que nos ocupa porque (a) tenemos como objetivo una sola especie, (b) porque no hay ningún motivo que nos lleve a pensar que la proporción de individuos neofílicos y neofóbicos por sexo y edad varíe entre las distintas poblaciones de neverones estudiadas; y (c) porque todos los trampeos se han hecho en el mismo tipo de hábitat. Esta homogeneidad permite comparar los resultados obtenidos en las distintas localidades (Tellería 1986).

La última fuente de variabilidad que puede afectar a este análisis es el esfuerzo diferencial de trampeo. Para evitarlo, los resultados brutos de los trampeos se expresan mediante el *Índice de Capturabilidad* (W) (Pucek 1981), que muestra la abundancia relativa de un organismo a partir del número de individuos capturados a través de trampeos en los que el esfuerzo de trampeo (número de trampas multiplicado por el número de días que éstas están activas) queda estandarizado. W responde a la expresión:

$$W = \frac{(\text{n}^\circ \text{ de animales capturados} \times 100)}{(\text{n}^\circ \text{ de trampas empleadas} \times \text{n}^\circ \text{ de noches})} g$$

y se expresa como el número de animales capturados en una noche utilizando 100 trampas.

Se ha demostrado que este índice es un estimador de la abundancia relativa muy útil para detectar diferencias de densidad poblacional interestacionales, interanuales, entre localidades o entre sistemas de trampeo (Pucek 1969; Chiarenzi *et al.* 1997; Taborska 2004; Metcheva *et al.* 2008).

En el campo hemos aplicado una metodología constante y homogénea en todas las colonias para no introducir ningún factor que pudiese crear una respuesta al trampeo diferencial entre los neverones de las distintas colonias. Para ello hemos utilizado sistemáticamente trampas de vivo de tipo Sherman y hemos usado siempre el mismo tipo de cebo. La colocación de las trampas en el campo ha seguido en todos los casos los mismo criterios: elección de los sitios según la experiencia de trampeo previa, distancia entre trampas de 4 - 5m, etc... La abundancia relativa obtenida para las colonias de Sierra Nevada ha sido comparada con la de otras áreas habitadas por el topillo nival como Pirineos, Guadarrama –en representación del Sistema Central- y Sierra Cebollera –en representación del Sistema Ibérico).

En los análisis comparativos entre localidades hemos aplicado los tests estadísticos de la U de Mann-Whitney y de Kruskal-Wallis (Fowler *et al.* 1998), y hemos utilizado el programa STATISTICA v. 6.0. (StatSoft 2001).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DISTRIBUCIÓN ACTUAL DEL TOPILLO NIVAL EN SIERRA NEVADA

De las 30 cuadrículas de 10x10 Km que en mayor o menor medida solapan con la superficie cubierta por el conjunto Parque Nacional de Sierra Nevada – Parque Natural de Sierra Nevada hemos prospectado 15 de ellas, con las que se ha cubierto más del 87% del área de interés (Figura 1-8). Esta proporción supera con mucho el área prospectada hasta la fecha (c.f. Figura 1-1) que no llegaba al 38%. El escaso porcentaje de la sierra que

queda sin muestrear se corresponde con las zonas más bajas y alomadas, donde apenas hay hábitats potenciales para el topillo nival.

Se han visitado un total de 100 localidades potenciales para el topillo nival, 29 de las cuales han sido muestreadas mediante trampeo según el protocolo descrito más arriba, lo que ha supuesto un esfuerzo de muestreo de 1,305 trampas repartidas en 87 noches. Las prospecciones pertinentes llevadas a cabo en las otras 76 localidades para la búsqueda de indicios específicos suman un total de 25 horas. La suma del total de localidades prospectadas por ambos tipos de técnicas (directas e indirectas) es superior a 100 porque algunas colonias fueron inspeccionadas por ambos métodos.

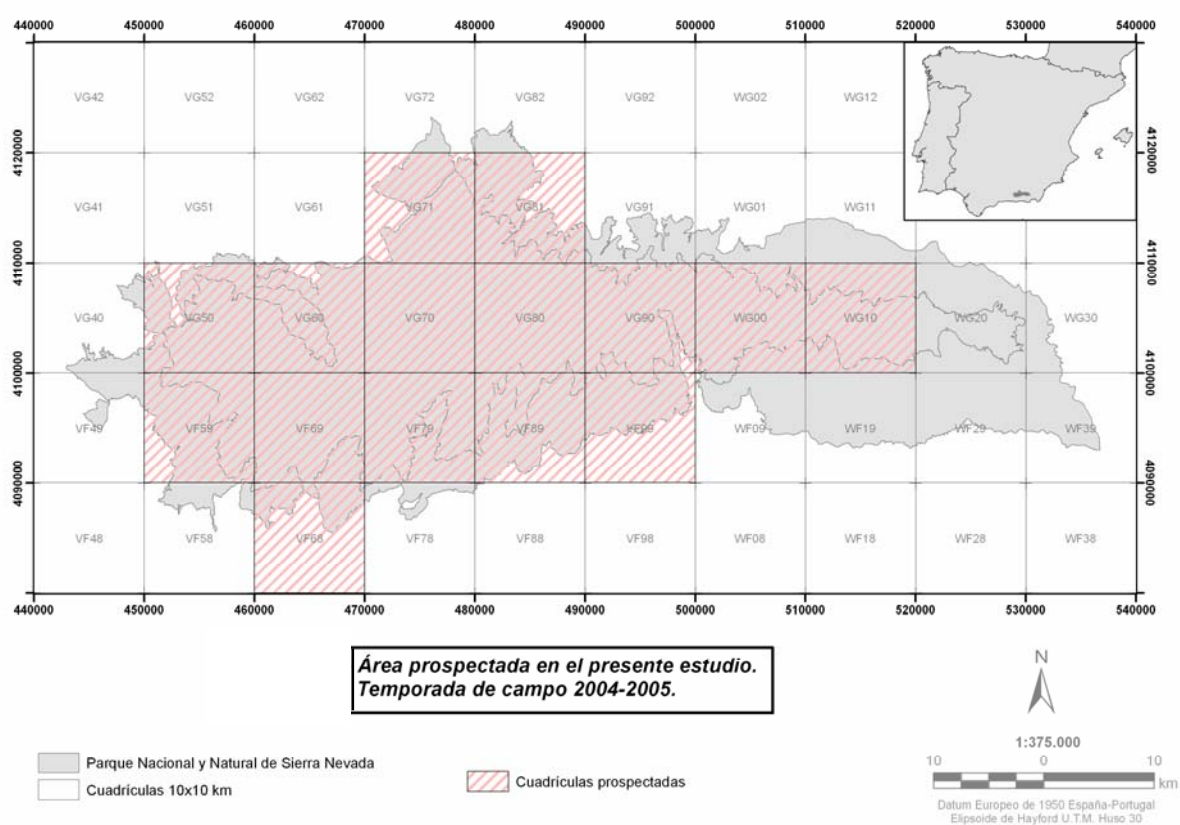


Figura 1-8.- Área prospectada en este estudio. Cubre más del 87% del área de interés, quedando excluidas únicamente las áreas más bajas y alomadas donde no hay zonas potenciales para el topillo nival.

De las 100 localidades prospectadas hemos detectado la presencia de neverón en el 75% de ellas. Tal y como se expone en la Figura 1-9, en la mayor parte de estos casos la presencia de topillo nival se ha detectado sólo a través de indicios, bien porque no se han realizado trampeos (52%), o por que estos no han tenido resultados positivos (5%). Las localidades en las que se realizaron capturas suponen el 18% del total.

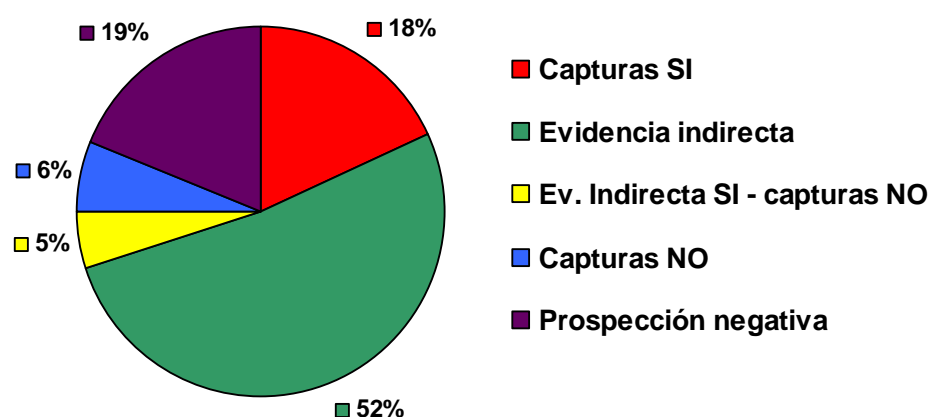


Figura 1-9.- Proporción de los resultados derivados de las 100 localidades muestreadas.

Dentro de Sierra Nevada, la localización de cada una de las 100 localidades muestreadas, el tipo de muestreo efectuado y el resultado del mismo se recoge en la Figura 1-10.

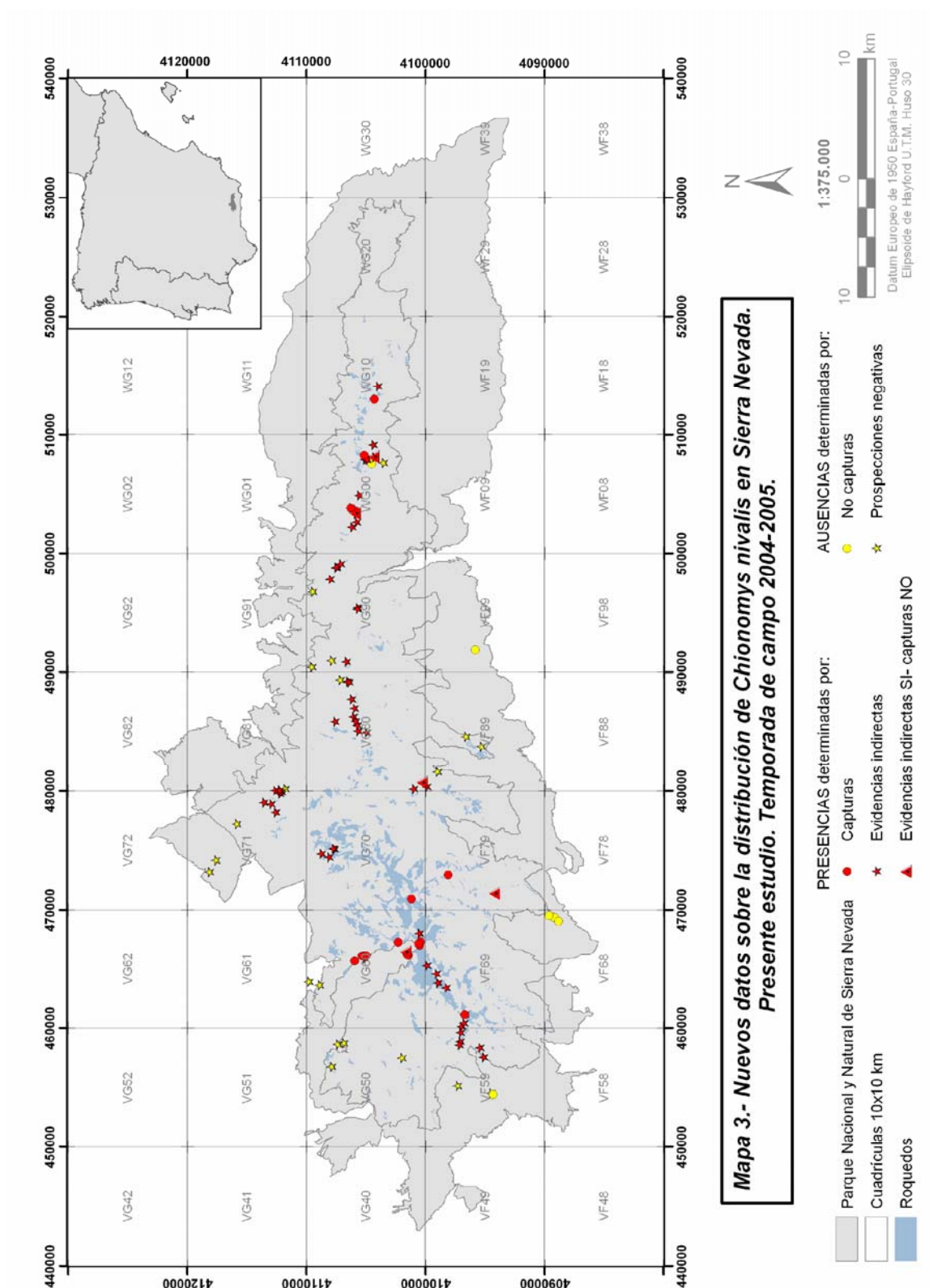


Figura 1-10.- Localización de cada una de las 100 localidades muestreadas en Sierra Nevada, tipo de muestreo efectuado (trampeo o búsqueda de evidencias indirectas) y el resultado del mismo (presencia de topillos o indicios o ausencia de los mismos).

Como resultado más relevante del estudio sobre la distribución del topillo nival en el macizo de Sierra Nevada, resaltamos que, en términos de cuadrículas UTM hemos verificado la presencia de *C.nivalis* en cinco nuevas cuadrículas de 10x10 Km, en las que hasta ahora no había sido citada la especie, y que se añaden a las otras seis conocidas más el municipio de Capileira (Tabla 1-2). Consideramos que en una cuadrícula no hay presencia de neverón cuando no encontramos evidencias indirectas o no obtenemos capturas en al menos tres muestreos efectuados en distintos parches de hábitat potencial para la especie (i.e. canchales). Es importante no confundir que, aunque hemos detectado la extensión de la presencia de topillo nival en 12 cuadrículas UTM de 10x10 Km de S.Nevada, su área de ocupación es mucho más reducida, pues se restringe tan sólo a los parches adecuados de hábitat rocoso dentro de aquella.

Presencia conocida de topillo nival en S.Nevada, referido a cuadrículas UTM

	<u>Prevía a este estudio</u>	<u>Con este estudio</u>
VG50	<input checked="" type="checkbox"/>	4 prospecciones negativas en esta cuadrícula
VG61	<input checked="" type="checkbox"/>	no muestreada, fuera del área de estudio
VG60	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
VG71	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
VG70	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
VG80	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
VG90	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
VF59		<input checked="" type="checkbox"/>
VF69	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
VF79	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
WG00		<input checked="" type="checkbox"/>
WG10		<input checked="" type="checkbox"/>
VG81*		<input checked="" type="checkbox"/>
VF89*		<input checked="" type="checkbox"/>

Tabla 1-2.- Presencia conocida de topillo nival en S.Nevada en cuadrículas UTM de 10x10 Km, antes y después de la realización del presente trabajo. El municipio de Capileira cubre parte de las cuadrículas VG 69 y VF 79. El asterisco (*) indica que técnicamente se han detectado indicios, y por tanto evidencias de la presencia de topillo nival en esas cuadrículas, aunque esta presencia se ha detectado en localidades muy próximas al borde de las cuadrículas. El área de estudio pertenece a la zona 30S (huso 30 sur) (e.g. 30SVG60).

3.2. MODELO DE SELECCIÓN DE HÁBITAT DEL TOPILLO NIVAL EN S.NEVADA

3.2.1. Resultados: ¿qué factores determinan la ocupación de los canchales de S.Nevada por el topillo nival?

A partir de los datos de presencia/ ausencia registrados en cada uno de los 100 canchales prospectados, y de las siete variables seleccionadas de caracterización de cada localidad construimos un modelo para poner de manifiesto las características de los canchales que seleccionan los topillos nivales en S.Nevada.

Los análisis de regresión logística mostraron que las dos únicas variables significativas ($p < 0.05$) en la predicción de la variable respuesta fueron la *altitud* y el *uso del suelo*, con sus cinco categorías (Tabla 1-3). Cuando una variable categórica entra a formar parte del modelo se le aplica un tratamiento especial, de forma que es transformada en $c-1$ variables dicotómicas llamadas *dummy* o ficticias, siendo c el número de categorías originales. Al crear las variables *dummy* se debe precisar con cuál de las categorías de la variable original interesa comparar el resto y esa será la llamada categoría de referencia (Domínguez Alonso y Aldana Padilla 2001). Nuestra categoría de referencia fueron las Zonas arboladas, para las que no se detectó ninguna presencia de topillo nival.

Las estimas de los parámetros o coeficientes de regresión logística (β) asociados a cada variable explicativa estiman el cambio en el logit (logaritmo de la probabilidad de presencia de neverón) en respuesta al cambio en una unidad en la variable independiente. Un valor de β positivo representa selección por una característica particular del hábitat, mientras que los negativos representarían rechazo. En la Tabla 1-3 se muestra también para cada variable independiente el t-ratio (cociente de su coeficiente entre su error estándar) y el valor de significación de su contribución en el modelo.

		Coeficiente (β)	error estándar	t-ratio	p
Uso del suelo	Constante	-37.384	7.197	-5.194	< 0.001
	Altitud	0.012	0.004	3.000	0.002
	Enebral-piornal	12.637	1.073	11.777	< 0.001
	Roquedos y pedregales	15.864	0.669	23.713	< 0.001
	Pastizales psicroxerófilos	23	2.053	11.225	< 0.001
	Matorral (piorno, retama, tomillo...)	12.584	0.976	12.893	< 0.001

Tabla 1-3.- Tabla de resultados del análisis de regresión logística. Las variables seleccionadas fueron la altitud (en m.) y el uso del suelo del entorno de cada canchal, con cuatro categorías posibles. Para cada variable se muestra el coeficiente de regresión logística, con su error estándar, la t-ratio y la significación de la regresión logística con la variable dependiente (presencia/ausencia de topillo nival).

Una forma equivalente de representar la misma información es mediante el exponencial de β (e^β , también denominado *odds ratio*) y sus valores de confianza del 95% (Tabla 1-4). El $\exp(\beta)$ se puede interpretar como una medida de la influencia de una variable sobre la probabilidad de que ocurra el evento (presencia de topillos en el canchal), suponiendo que el resto de las variables del modelo permanecen constantes. Representa por tanto una forma más intuitiva, que los coeficientes β , para interpretar el efecto de cada variable independiente sobre la variable dependiente, pues la relación se establece con la probabilidad de presencia, directamente y no con el logaritmo de la probabilidad de presencia. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el exponencial del coeficiente correspondiente a una de las variables *dummy*, estima la magnitud en que varía el riesgo de que ocurra el suceso (presencia de neverones) en comparación con la categoría de referencia, con lo que el exponencial de β se puede usar para comparar el efecto entre categorías de una variable, pero no entre variables. Un intervalo de confianza (del 95%) para el exponencial de β que contenga al uno indica que la variable no tiene una influencia significativa en la probabilidad del suceso (ocurrencia de topillo nival) (Domínguez Alonso y Aldana Padilla 2001; Garson 2008).

		exp(β)= odds ratio	Lím. superior (95%)	Lím. inferior (95%)
Uso del suelo	Altitud	1.012	1.02	1.004
	Enebral-piornal	307858.474	2520591.678	37601.029
	Roquedos y pedregales	7757697.664	2.87E+07	2091487.313
	Pastizales psicroxerófilos	1.02E+10	5.63E+11	182254000.000
	Matorral (piorno, retama, tomillo...)	291853.806	1978460.007	43053.003

Tabla 1-4.- Tabla de resultados del análisis de regresión logística con los exponenciales de β y el límite de confianza de cada variable. Las *odds ratios* de las categorías de uso del suelo representan la probabilidad de que un canchal con un determinado uso del suelo esté ocupado por topillo nival en relación a un canchal situado en una zona arbolada, siendo ésta la categoría de referencia.

El *likelihood ratio test* ($2 * [LL(N) - LL(0)] = 83.846$, con 5 g.l. Chi-sq, $p = 0.000$) puso de manifiesto una alta significación también del modelo en su conjunto, indicando que la predicción del modelo mejora significativamente con respecto a un modelo reducido sin coeficientes (sólo con el término independiente o constante). Asimismo, el modelo consiguió explicar un alto porcentaje de la variabilidad observada (Rho de McFadden = 0.746). Este coeficiente se interpreta de forma equivalente al coeficiente de determinación (R^2) de las regresiones lineales, y como él oscila entre 0 y 1, aunque tiende siempre a tomar valores más bajos, de modo que valores entre 0.2 y 0.4 son ya muy satisfactorios (Henscher y Jonhson 1981).

La técnica de la regresión logística requiere de al menos 10 casos en cada uno de los dos valores posibles (presencias/ausencias), para que las estimaciones sean fiables (Hsieh 1989). En nuestro caso la relación presencias:ausencias fue de 75:25. De las 75 localidades muestreadas con presencia de topillo nival, el modelo clasificó correctamente 71 de ellas; y de las 25 localidades en las que el topillo estuvo ausente, 21 asignaciones fueron correctas. A partir de estas cifras podemos calcular la proporción de aciertos o éxitos predichos por el modelo, la cual fue superior al 91%. Tanto la sensibilidad (o proporción de presencias predichas correctamente) como la especificidad (capacidad para predecir las ausencias) del modelo también fueron muy altas. Por su parte, la proporción de errores debidos a falsas referencias (o proporción de localidades muestreadas en las que sí hay topillo nival pero el modelo las clasifica como ausencias) también fue baja, aunque los debidos a falsas respuestas (localidades que el modelo predice con presencias de topillo nival estando éstos ausentes) fue algo más elevada (Tabla 1-5).

	Presencias	Ausencias	Total
Localidades muestreadas	75	25	100
Clasificaciones correctas (sensibilidad vs. especificidad)	94.40%	83.30%	
Clasificaciones erróneas (falsas referencias vs. falsas respuestas)	19.40%	58.30%	

Tabla 1-5.- Tabla de predicción del modelo descrito en la Tabla 1-3.

El test de Hosmer-Lemeshow de ajuste de la bondad nos permitió comprobar que la distribución de las probabilidades de predicción del modelo no difiere de las observadas. (Hosmer-Lemeshow test, chi-cuadrado = 8.086, g.l. = 8, $p = 0.697$), pudiendo concluir que el modelo se ajusta (o responde) muy bien a la realidad observada.

3.2.2. Interpretación

Recordemos que todas las localidades muestreadas y utilizadas para la construcción del modelo son hábitats de tipo rocoso con distinta estructura general (ladera pedregosa, afloramientos rocosos aislados, tajo con fisuras y desprendimientos....), aunque en su mayoría se trata de canchales o cascajares propiamente dichos. En todos los casos estamos hablando, por tanto, de que el tipo de hábitat inmediato del topillo nival es el canchal, y la variable *uso del suelo* incluida en el modelo, se refiere al entorno próximo en el que se encuentra cada canchal.

En base a los coeficientes de regresión logística y a los valores de significación (c.f. Tabla 1-3) podemos comprobar que el modelo atribuye mucha importancia a todas las categorías de uso del suelo, y que todas tienen un efecto positivo sobre la probabilidad de ocupación del canchal por topillo nival. De forma equivalente, los exponenciales de β (odds ratios) (c.f. Tabla 1-4) indican que un canchal caracterizado por cualquiera de las categorías de uso del hábitat contempladas en el modelo tiene una probabilidad superior, en seis o más órdenes de magnitud, de estar ocupado por neverones que un canchal situado en una zona arbolada. Dentro de esta desproporcionada diferencia entre las áreas arboladas y el resto de las categorías de uso del hábitat, parece que los canchales situados en pastizales psicroxerófilos tienen una mayor probabilidad de estar ocupados por topillos nivales que el resto, sugiriendo una preferencia de los topillos por los canchales próximos a

estas zonas con una dominancia de cobertura herbácea que, a menudo, se mantiene fresca también durante el estío.

En cuanto a la *altitud*, parece no tener mucho peso si miramos al coeficiente β en comparación con el de otras variables del modelo, sin embargo se ha demostrado que también juega un papel muy significativo en la mejora de la predicción sobre la variable respuesta (recuérdese su valor de significación, $p < 0.05$). De hecho, si observamos el diagrama de barras de la Figura 1-11 se puede comprobar que la presencia de poblaciones de topillo nival en el macizo nevadense se detecta siempre por encima de los 2000m. s.n.m., cuando en realidad hay parches aislados de hábitat, aparentemente adecuado (canchales), a menor altitud.

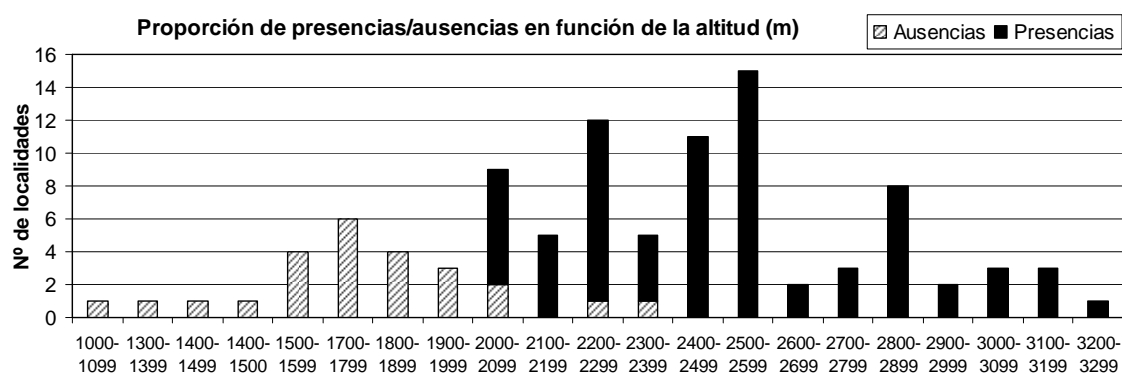


Figura 1-11.- Proporción de localidades con presencias o ausencias de topillo nival en función de la altitud en S.Nevada. Nótese que es a partir de los 2000m cuando se detectan las presencias.

En comparación con otras localidades de montaña más septentrionales, como Guadarrama y Pirineos, en las que hemos registrado presencia de neverones al menos a partir de los 1800m y 1400m, respectivamente, se podría pensar que la restricción del topillo nival a tan altas cotas en S.Nevada podría responder a la compensación entre latitud y altitud en la búsqueda de unas condiciones térmicas más atemperadas. Sin embargo, recordemos que el topillo nival, a pesar de su nombre común (y científico), no es una especie que requiera particularmente de unas condiciones nivales o de frío, ni tampoco de alta montaña, sino que es una especie petricola, adaptada a un hábitat muy específico: acumulaciones estables de bloques de piedra en medios abiertos.

Dentro de su área de distribución se conocen poblaciones de topillo nival desde prácticamente el nivel del mar hasta a más de 4000m (Wilson y Reeder 2005), por supuesto siempre asociadas a hábitats rocosos en los que se crea una matriz de huecos entre los que se desplazan y viven. En este tipo de hábitats, el topillo nival encontró un nicho vacío y lo hizo suyo, especializándose y adaptándose a las condiciones de los mismos. Así, por ejemplo, *C.nivalis* ha desarrollado rasgos morfológicos y comportamentales específicamente adaptados para moverse en los ambientes y fisuras rocosas. Entre estos rasgos destacan las patas relativamente largas, dedos con unos músculos flexores muy desarrollados para trepar bien, y con grandes almohadillas plantares para amortiguar los saltos, largas vibrisas (de hasta 6cm) para calcular su posición relativa con respecto a las rocas próximas, y cola larga que le ayuda a mantener y recuperar el equilibrio tras los saltos. En comparación con la mayoría de los microtininos estas características le confieren una gran habilidad para escalar, saltar y moverse en este tipo de microhábitats estructuralmente complejos (Krapp 1982; Boye 1996) (Figura 1-12).



Figura 1-12.-Neverones desplazándose en su medio de bloques rocosos.

Por otro lado, en el interior de los canchales se crea un microclima con una estabilidad térmica excepcional, de modo que aunque la superficie exterior del canchal esté expuesta a las intemperies del clima, fuertes ventiscas invernales o intensa insolación estival, las cámaras de aire y la matriz de huecos que se forma entre las rocas mantienen una temperatura muy homogénea.

En este sentido, presentamos en la Figura 1-13 los resultados de un pequeño experimento en el que comparamos la oscilación térmica registrada en el interior del canchal y en el exterior del mismo, a lo largo de una semana (del 7 al 13 de septiembre de 2005). Para ello utilizamos data loggers (equipos electrónicos que registran datos automáticamente) equipados con cuatro sondas térmicas cada uno, y programados para tomar la temperatura cada 15 minutos. La temperatura en el interior del canchal se tomó a 1-1.5 m de profundidad, introduciendo las sondas de temperatura entre las piedras. En el exterior, las sondas se colocaron entre arbustos de enebro (*Juniperus communis*) y sabina (*Juniperus sabina*), con una altura de unos 25-30cm. A pesar de la protección que esta cobertura arbustiva pudo proporcionar, se observan acusadas diferencias en los patrones de temperatura registrados entre estas dos zonas (dentro y fuera del canchal) que apenas distan 30m de distancia entre sí. En el interior del canchal la temperatura se mantuvo prácticamente constante (8-9°C) a lo largo de los siete días en los cuatro puntos muestreados, mientras que en el exterior se pueden observar las marcadas oscilaciones asociadas a las temperaturas diurnas y nocturnas (5-30°C). Aunque no podemos ilustrarlo gráficamente, la variación estacional de las temperaturas también se amortigua en el interior del canchal, que mantiene una estabilidad térmica muy homogénea durante todo el año (Janeau 1980; Krapp 1982; Krystufek y Kovacic 1989; Yoccoz y Ims 1999; Luque-Larena *et al.* 2002).

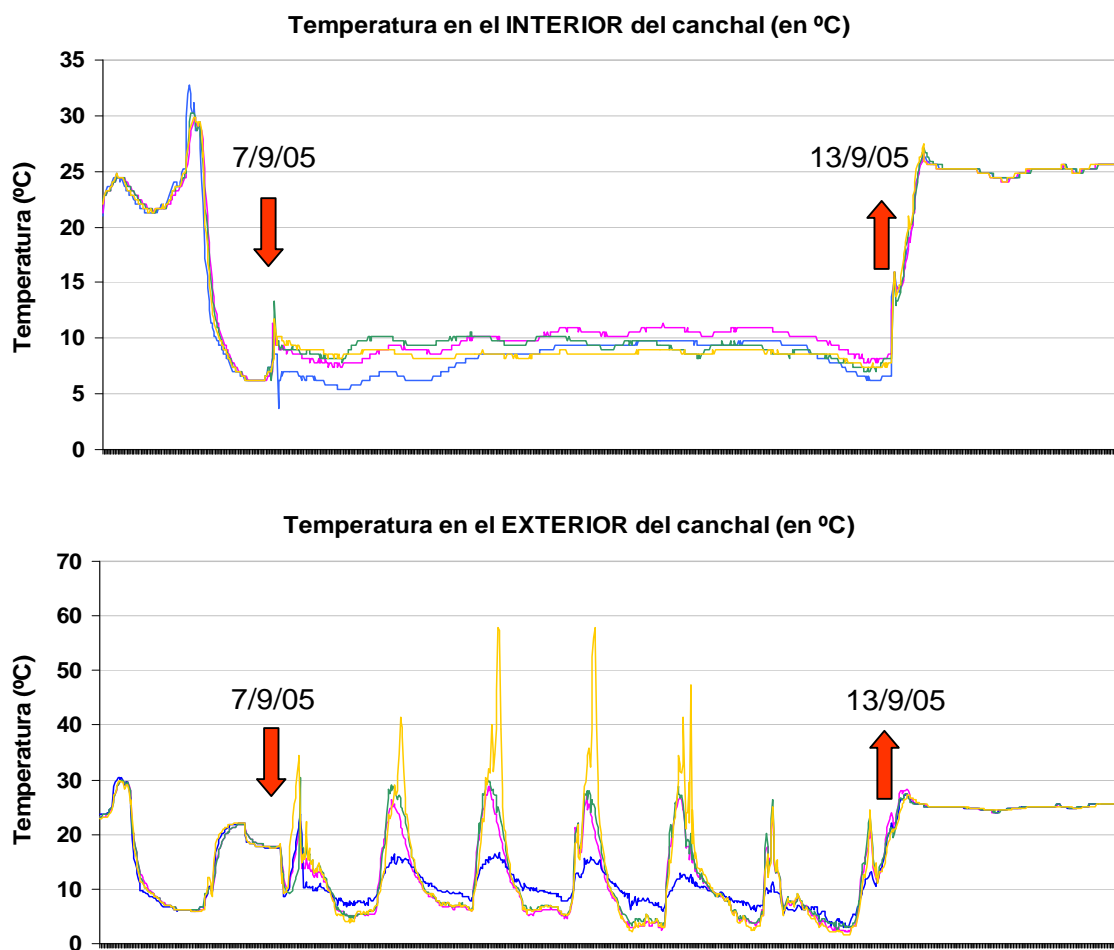


Figura 1-13.- Comparación de la temperatura registrada en el interior del canchal con la temperatura en el exterior del mismo. Nótese la estabilidad térmica en el interior (8-9°C) frente a las marcadas oscilaciones del exterior (5-30°C). Las temperaturas se registraron con cuatro sondas en cada emplazamiento, cada 15 minutos, durante la semana 7-13/9/05, indicado con las flechas rojas. (La línea naranja del exterior del canchal parece corresponder a una sonda que sólo está protegida parcialmente por la cobertura arbustiva, y que por tanto en determinados momentos del día, en atención a la inclinación de la tierra respecto del sol, recibe la radiación solar directamente, registrando las oscilaciones térmicas tan extremas que presenta en la figura).

En estas condiciones particulares de estabilidad térmica que se crean en el interior de los canchales, los topillos nivales han evolucionado como una especie muy estenoterma, es decir, incapaz de tolerar grandes variaciones en la temperatura ambiental (Krystufek y Kovacic 1989; Metcheva *et al.* 2008). De hecho, los mecanismos de regulación de la temperatura corporal están muy poco desarrollados en esta especie, lo que hace que su temperatura interna fluctúe con la temperatura ambiental (heterotermia). Así, por ejemplo, para un rango de temperatura exterior entre -5°C y 20°C, la temperatura corporal de los neverones varía desde los 32.7°C a los 38.1°C, mientras que para el mismo rango térmico, los topillos rojos (*Clethrionomys glareolus*) y los topillos de campo (*Microtus arvalis*) mantienen una temperatura corporal prácticamente constante entorno a los 37.3°C (Bienkowski y Marszalek 1974). Sólo para un reducido intervalo, entre los 5°C y los 20°C, la temperatura de los topillos nivales se mantiene constante en unos 38.5°C (Metcheva *et al.* 2008). Obviamente, dentro de este intervalo se encuentra la zona termoneutral (temperatura media ambiental dentro de la cual el animal mantiene relativamente constante su temperatura corporal sin utilizar energía extra –por tanto el consumo de oxígeno es mínimo–) que, para el topillo nival es particularmente baja, situándose en los 15°C (Metcheva *et al.* 2008), mientras que para el topillo rojo y el campesino está entorno a los 30°C (Bienkowski y Marszalek 1974).

Los topillos nivales son pues, muy sensibles a las variaciones térmicas, sin embargo el aislamiento térmico que les proporcionan los canchales les permite estar presentes en ambientes muy diferentes. Así por ejemplo, se pueden encontrar poblaciones de topillo nival desde en un clima mediterráneo costero, en las localidades de baja altitud de la costa de Croacia (30m s.n.m.), Yugoslavia, Francia, Italia o España (Fons y Libois 1977; Knox Jones y Carter 1980; Niethammer 1982; Krystufek y Kovacic 1989; Nappi 2002), hasta en un clima alpino, propio de los Alpes, donde destacan como el único mamífero presente a 4700m en el Mont Blanc (Saint Girons 1973).

Todo esto nos hace pensar que la restricción de los topillos nivales a zonas tan elevadas de Sierra Nevada, en comparación con su distribución en otros sistemas montañosos más septentrionales, no se debe a que la especie haya desplazado su distribución en S.Nevada hacia cotas superiores para buscar temperaturas más bajas, pues los canchales son capaces de acomodar y mantener constante la temperatura interior en los

mismos bajo un amplísimo rango de condiciones climáticas externas. Ciertamente es que la modificación de los límites altitudinales de distribución de ciertas especies en respuesta al aumento generalizado de las temperaturas es uno de los efectos del cambio climático que más temprano se ha documentado, encontrándose además, los ecosistemas de montaña entre los más vulnerables a los efectos del cambio climático (Becker y Bugmann 2001). En S.Nevada concretamente ya se han apreciado alteraciones, como el hecho de que algunas especies de flora estén ya al límite de sus posibilidades de habitar en el macizo montañoso y de hecho, según los modelos predictivos, algunas de ellas acabarán por “salirse” por el límite altitudinal de las cumbres y se extinguirán en Sierra Nevada (Pauli *et al.* 2003). Dentro de este contexto de cambio climático y de creciente preocupación al respecto, creemos que la estabilidad térmica de los canchales les proporciona a los topillos una salvaguarda frente a los efectos del cambio climático, al menos a corto y a medio plazo. No obstante, no descartamos que los neverones puedan verse afectados por el cambio climático indirectamente, a través del efecto que el aumento de las temperaturas y la reducción de las precipitaciones puede tener sobre el crecimiento del estrato herbáceo y arbustivo, fuente de alimento para los topillos nivales, y que ya escasea en nuestros días en las cumbres nevadenses.

Volviendo a la cuestión original sobre porqué la presencia de poblaciones de topillo nival en S.Nevada está restringida a cotas superiores a los 2000m, sugerimos que la respuesta está relacionada con que, precisamente, es a partir de los 2000m de altitud cuando en Sierra Nevada aparecen los procesos periglaciares y los antiguos fenómenos glaciares que han generado los canchales y morrenas en los que viven los neverones (Casas Morales 1943; Martínez de Pison y Tello 1987; Molero Mesa *et al.* 1992). Son estos los canchales de “calidad”, cuya estructura y configuración interna (disposición y tamaño de las rocas, profundidad del canchal, etc...) proporcionan las condiciones adecuadas de abrigo y aislamiento térmico, tan importantes para el topillo nival (Krystufek y Kovacic 1989). Por debajo de este límite, la mayoría de las localidades muestreadas no eran propiamente canchales de origen periglaciario, sino que simplemente eran pequeños parches de hábitat rocoso, algunos muy aislados entre sí, otros formados por sólo unos cuantos bloques de piedra muy laxos y sin una estructura propia de canchal, otros eran derrubios “recientes” no presentes durante la época de expansión del topillo nival, etc...

* * *

El *sector* y la *orientación* son dos las variables ante las que los topillos nivales parecen mostrarse indiferentes en S.Nevada. Sin embargo, en otras localidades la orientación del canchal sí tiene importancia en la probabilidad de ocupación por neverón. Dada esta diferencial selección por la orientación de los canchales consideramos interesante dedicarle un espacio, a pesar de que estas variables (sector y orientación) fueron descartadas por el modelo.

Consideramos sectores a los cuadrantes NO, NE, SE y SO de S.Nevada, localmente conocidos como sector de Poniente, Marquesado, Alpujarra oriental y Alpujarra occidental, respectivamente. En atención al sector, tanto el número de localidades prospectadas como el número de localidades en las que se ha confirmado la presencia de topillo nival fue superior en la vertiente norte de la sierra (Marquesado y Poniente) que en la vertiente sur (Alpujarra occidental y oriental) (Chi-cuadrado test; $p < 0.001$ en ambos casos) (Figura 1-14). Sin embargo, si relativizamos la frecuencia de aparición de neverones frente a la disponibilidad de hábitats potenciales (medido como el número de localidades prospectadas) en cada sector, observamos que la presencia de neverón es similar en los cuatro sectores de la sierra (Chi-cuadrado test = 0.035, g.l. = 3; $p = 0.99$).

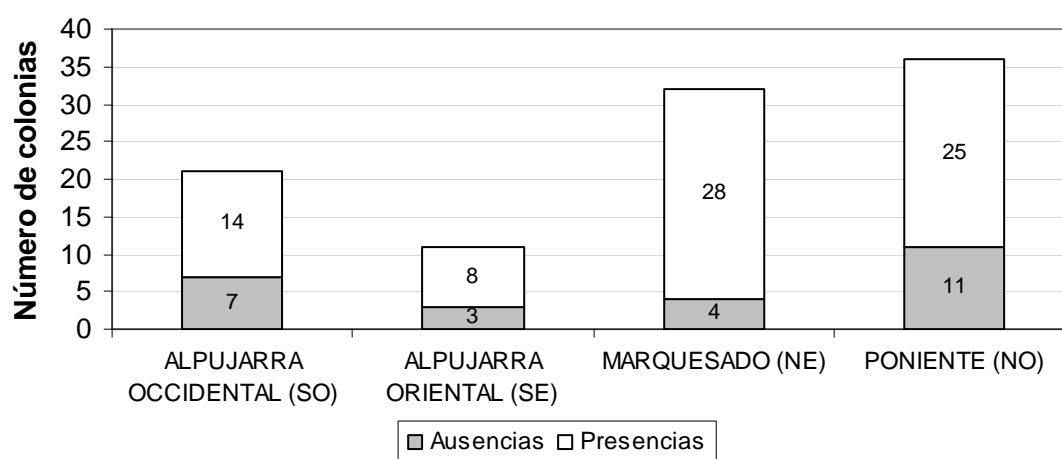


Figura 1-14.- Proporción de localidades con presencias o ausencias de topillo nival por sectores del Parque Nacional y Natural de Sierra Nevada. Los números dentro de las barras corresponden al número de localidades.

Estos análisis son indicativos de que, aunque la orografía más accidentada de las cuencas de los ríos Guadiana Menor y Geníl (en la vertiente norte) hacen que los fenómenos glaciares y periglaciares sean más frecuentes que en la vertiente alpujarreña, y con ello la existencia de canchales y depósitos morrénicos (Casas Morales 1943; Martínez de Pison y Tello 1987), la presencia del neverón relativa a la disponibilidad de hábitat es similar en ambas vertientes de la sierra, demostrando que la orientación no parece determinar su frecuencia en los hábitats adecuados del macizo.

En este sentido, el análisis comparativo del número de canchales con presencia de neverón en relación al número de canchales muestreados para cada orientación (N, NE, E, SE, S, SO, O, NO) no evidenció diferencias significativas (Chi-cuadrado test = 3.1, g.l. = 7; $p = 0.87$), demostrando que esta especie en S.Nevada no selecciona los canchales en función de la orientación de la ladera. Esto contrasta con los resultados obtenidos en otras poblaciones de topillo nival (e.g. Navacerrada o Alpes franceses), en las que sí se observa una preferencia por los canchales orientados al sur, sureste o suroeste, donde el deshielo es más temprano (Le Louran y Janeau 1975; Janeau 1980; Luque-Larena *et al.* 2002).

Para explicar estas diferencias, se ha de tener en cuenta que las condiciones ecológicas en la alta montaña mediterránea, de la que Sierra Nevada es el mejor ejemplo ibérico, son muy duras comparadas con las del resto de las montañas europeas. Igual que en estas, el largo invierno puede ser muy duro y prolongado, reduciendo el periodo vegetativo a unos pocos meses al año. Sin embargo, en las sierras penibéticas este corto periodo estival coincide con una intensa sequía e insolación, agravada por el efecto desecante de los vientos (Costa *et al.* 1998). Aunque este aspecto debería de ser confirmado por muestreos más finos, estas condiciones extremas podrían haber llevado a las poblaciones nevadenses de *C.nivalis* a ocupar medios subóptimos con respecto al resto de las montañas europeas (canchales umbríos) en los que, aunque la presencia de la nieve sea más prolongada, esta hace que, precisamente, el suelo esté más húmedo en verano y de lugar a una mayor disponibilidad y calidad en el alimento.

3.3. ÍNDICES DE ABUNDANCIA DE TOPILLO NIVAL EN LAS COLONIAS DE SIERRA NEVADA Y COMPARACIÓN CON OTRAS LOCALIDADES

La relación de los índices de capturabilidad de *C.nivalis* para los canchales muestreados en Sierra Nevada, Pirineos, Guadarrama y Sierra Cebollera se recoge en la Tabla 1-6. Salvo en la madrileña sierra de Guadarrama, donde en los cinco canchales muestreados se detectó la presencia de topillo nival, en las otras tres áreas de estudio se encontró un número variable de canchales aparentemente potenciales para el topillo nival, pero en los que no se produjo ninguna captura (c.f. Tabla 1-6). A la hora de comparar los valores medios del índice de capturabilidad (W) entre las áreas de estudio, hemos decidido prescindir de las localidades en las que no se capturó ningún animal, pues no hacen sino disminuir el valor de W de forma no proporcional entre áreas. No obstante, en la Tabla 1-7 mostramos los valores medios de todos los canchales en cada área y los valores medios del conjunto de canchales en los que $W > 0$. Los valores medios del índice de capturabilidad, definido como el número de animales capturados en una noche utilizando 100 trampas, fueron mayores para Guadarrama, pareciendo indicar un mayor número relativo de individuos por canchal, seguidos de los de Pirineos, S.Nevada y S.Cebollera, no obstante, las diferencias no fueron significativas (Kruskal-Wallis test: $H(3, N=37) = 4.78$, $p = 0.1882$), debido a la alta variabilidad en el índice de capturabilidad dentro de cada área de estudio, y al bajo número de localidades prospectadas para algunas áreas (c.f. Tabla 1-7). En concreto para S.Nevada se obtuvo un índice de capturabilidad de 4.28, indicando que con 100 trampas activas se capturaría una media de cuatro neverones por noche.

	Todos los canchales		Canchales donde $W > 0$	
	Ind. Capt. (W)	N	Ind. Capt. (W)	N
Guadarrama	7.67 ± 5.49	5	7.67 ± 5.50	5
Pirineos	2.85 ± 3.64	15	6.10 ± 2.80	7
S.Nevada	2.77 ± 2.83	34	4.28 ± 2.42	23
S.Cebollera	0.73 ± 1.32	7	2.55 ± 1.10	2

Tabla 1-7.- Valores medios y desviación estándar del índice de capturabilidad (W), expresado como porcentaje, de topillo nival en los canchales de Guadarrama, Pirineos, Sierra Nevada y Sierra Cebollera. Los valores medios de la mitad izquierda de la tabla incluyen todos los canchales muestreados, los de la mitad derecha, sólo los de aquellos canchales en los que hubo alguna captura positiva de *C.nivalis*, evidenciando por tanto su presencia. Estos últimos son los valores que usaremos para comparar el índice de capturabilidad entre localidades.

Canchal	Nº trampas	Nº noches	Nº capturas	Indice de capturabilidad (%)	Fecha	Localidad
Navacerrada I	20	3	2	3.3	01/07/2005	Guadarrama
Navacerrada II	15	3	1	2.2	01/07/2005	Guadarrama
Peñalara I	15	3	7	15.6	01/09/2004	Guadarrama
Peñalara II	60	3	12	6.7	01/06/2005	Guadarrama
Peñalara III	60	3	19	10.6	01/08/2006	Guadarrama
Aisa	20	1	0	0	15/07/2006	Pirineos
Benasque (1)	30	1	0	0	15/07/2006	Pirineos
Benasque (2)	16	1	1	6.3	15/07/2006	Pirineos
Cerler (1)	20	2	0	0	15/07/2006	Pirineos
Cerler (2)	40	4	8	5	15/07/2006	Pirineos
Pto. Bonaigua (1)	15	2	0	0	15/07/2006	Pirineos
Pto. Bonaigua (2)	38	2	0	0	15/07/2006	Pirineos
Valle Bujaruelo	20	1	1	5	15/07/2006	Pirineos
Valle de Otaí	40	1	0	0	15/07/2006	Pirineos
Valle de Oza-1	35	2	8	11.4	15/07/2006	Pirineos
Valle de Oza-2	10	4	3	7.5	15/07/2006	Pirineos
Valle de Oza-4	10	2	1	5	15/07/2006	Pirineos
Vasa de la Mora	60	2	3	2.5	15/07/2006	Pirineos
Vielha1	20	1	0	0	15/07/2006	Pirineos
Vielha2	40	1	0	0	15/07/2006	Pirineos
Ermita	31	1	0	0	15/07/2006	Sierra Cebollera
Laguna del Hornillo	31	1	0	0	15/07/2006	Sierra Cebollera
Laguna Negra	30	2	2	3.3	15/07/2006	Sierra Cebollera
Pto. Piqueras (1)	9	1	0	0	15/07/2006	Sierra Cebollera
Pto. Piqueras (2)	29	2	0	0	15/07/2006	Sierra Cebollera
Pto. Piqueras (3)	28	2	1	1.8	15/07/2006	Sierra Cebollera
Pto. Sta. Inés (1)	30	1	0	0	15/07/2006	Sierra Cebollera
Cañada de la Iglesia	15	4	3	5	26/08/2004	Sierra Nevada
Carihuela	6	3	1	5.6	18/08/2004	Sierra Nevada
Cascajar Negro	15	3	0	0	27/08/2004	Sierra Nevada
Cerro Almirez (1)	15	3	0	0	26/09/2004	Sierra Nevada
Cerro Almirez (2)	15	3	0	0	26/09/2004	Sierra Nevada
Cerro Almirez (4)	30	3	1	1.1	01/07/2005	Sierra Nevada
Cerro de El Buitre	15	1	1	6.7	01/07/2005	Sierra Nevada
Collado de las Yeguas	15	3	0	0.0	01/06/2005	Sierra Nevada
Embalse de las Yeguas	15	3	3	6.7	01/06/2005	Sierra Nevada
Laguna Aguas Verdes	15	3	4	8.9	17/08/2004	Sierra Nevada
Laguna Aguas Verdes	15	3	1	2.2	01/06/2005	Sierra Nevada
Laguna Aguas Verdes	15	3	2	4.4	28/08/2006	Sierra Nevada
Laguna de la Caldera	14	3	4	9.5	25/08/2004	Sierra Nevada
Laguna del Caballo	16	1	1	6.3	28/07/2005	Sierra Nevada
Lagunilla Seca 1	15	3	0	0	09/07/2004	Sierra Nevada
Lagunilla Seca 2	15	3	1	2.2	27/09/2004	Sierra Nevada
Lagunilla Seca 3	15	3	1	2.2	28/09/2004	Sierra Nevada
Loma Piedra Ventana	15	3	0	0	01/07/2005	Sierra Nevada
Los Asperones (1)	15	1	0	0	01/06/2005	Sierra Nevada
Mojón del Trigo (1)	40	3	8	6.7	29/05/2004	Sierra Nevada
Mojón del Trigo (1)	60	9	11	2.0	10/08/2004	Sierra Nevada
Mojón del Trigo (1)	60	3	4	2.2	08/08/2006	Sierra Nevada
Mojón del Trigo (2)	15	4	3	5	16/08/2004	Sierra Nevada
Mojón del Trigo (3)	15	3	2	4.4	15/08/2004	Sierra Nevada
Mojón del Trigo (4)	15	3	1	2.2	01/08/2004	Sierra Nevada
Peña del Angel	32	3	0	0	15/04/2004	Sierra Nevada
Peñones S.Francisco	15	3	1	2.2	15/08/2004	Sierra Nevada
Picón del Monte (1)	10	3	0	0	15/04/2004	Sierra Nevada
Picón del Monte (2)	14	3	0	0	15/04/2004	Sierra Nevada
Picón del Monte (3)	9	3	0	0	15/04/2004	Sierra Nevada
Tajo de la Encantá	15	3	0	0	11/07/2005	Sierra Nevada
Tajos de la Virgen (1)	15	3	1	2.2	01/08/2004	Sierra Nevada
Telesilla Stadium	15	3	2	4.4	01/06/2005	Sierra Nevada
Veredón	15	3	1	2.2	01/06/2005	Sierra Nevada

Tabla 1-6.- Relación de los índices de capturabilidad de *C.nivalis* en distintas localidades.

Éstos análisis parecen indicar que el número relativo de individuos por canchal en Sierra Nevada entra dentro del rango medio de individuos por canchal para las otras zonas muestreadas, considerando como límite superior los valores de W obtenidos para Guadarrama, y como límite inferior, los obtenidos para la Sierra Cebollera, en el Sistema Ibérico. Sin embargo, las prospecciones de campo que efectuamos en Sierra Cebollera nos hacen pensar que las poblaciones de topillo nival no presentan unas perspectivas muy favorables en ese área, en comparación con las otras zonas, pues en una semana de muestreo intensivo en localidades apropiadas únicamente capturamos tres ejemplares con un esfuerzo de muestreo de 420 trampas. Esto nos hace pensar que el hecho de que la abundancia relativa (medida a través del índice de capturabilidad) de los neverones de Sierra Nevada esté dentro del rango de abundancia entre Guadarrama y Sierra Cebollera, no es ninguna salvaguarda, pues como decimos, S.Cebollera presentó unos niveles extremadamente bajos. En este sentido, si comparamos el índice de capturabilidad encontrado para S.Nevada con el de Pirineos y Guadarrama, sí encontramos un menor número de individuos capturados en los canchales de S.Nevada (Mann-Whitney U Test = 86; $p = 0.07$, marginalmente significativo; $N(\text{S.Nevada}) = 23$, $N(\text{Pirineos} + \text{Guadarrama}) = 12$), pareciendo indicar que en esta localidad las poblaciones de neverones son más laxas que en Pirineos y Guadarrama.

El índice de capturabilidad de Pucek ha sido empleado también como medida de la abundancia relativa de topillo nival en las Montañas de Rila (Balcanes), en el centro de Bulgaria (Metcheva *et al.* 2008). El estudio se desarrolló a lo largo de tres veranos, dando valores medios de 12 indiv/ 100 trampas ($N=3$), con un mínimo de 5.2 y un máximo de 21 animales por 100 trampas. Se trata de valores notablemente más elevados que los que aquí presentamos para las distintas áreas muestreadas en España (c.f. Tabla 1-7). Esta comparativa nos está indicando que si bien, la abundancia relativa de neverones en S.Nevada es baja dentro de un contexto ibérico, también lo es su abundancia relativa en el conjunto de las montañas de España en comparación con las montañas búlgaro-anatólicas que constituyen el centro y origen de su área de distribución (Nadachowski 1991a). Esta comparativa no hace sino que evidenciar aún más la baja abundancia relativa de neverones en S.Nevada en relación con otras poblaciones europeas. Las condiciones ambientales óptimas para una especie se dan en el centro de su rango de distribución, y según nos

alejamos de éste las condiciones van empeorando y con ellas la abundancia poblacional disminuyendo (Brown 1984). S.Nevada constituye el extremo suroccidental del área de distribución del topillo nival, contribuyendo este hecho, muy probablemente, a explicar la menor abundancia y mayor vulnerabilidad de las poblaciones nevadenses.

Desconocemos si la baja abundancia relativa detectada en S.Nevada se debe a un declive reciente o si esos bajos valores son “normales” para esta localidad pues carecemos de información sobre la abundancia relativa de épocas pasadas con la que poder contrastar los valores medios actuales. En este sentido, los índices de capturabilidad que aquí hemos obtenido podrán servir como valores de referencia para evaluar las tendencias poblacionales en un futuro. Y esto es muy importante, ya que la tendencia demográfica de una población es uno de los criterios principales que la UICN tiene en consideración a la hora de evaluar el grado de amenaza de un taxón (UICN 2001).

4. CONCLUSIONES

En este capítulo hemos estudiado la distribución, la selección de hábitat y la abundancia relativa de las poblaciones de topillo nival de Sierra Nevada. Las reducidas dimensiones, el gran aislamiento físico con respecto de las otras zonas de distribución del topillo nival dentro de la Península Ibérica, y su situación geográfica en el extremo suroccidental de su distribución mundial hacen que el núcleo poblacional nevadense merezca especial atención.

En el estudio hemos revisado y actualizado la distribución conocida del topillo nival en Sierra Nevada, verificando su presencia en cinco nuevas cuadrículas UTM de 10x10 km en las que hasta la fecha nunca se había citado la especie. En total hemos registrado la presencia del neverón en 12 cuadrículas UTM de 10x10 km, de un total de 15 cuadrículas prospectadas con las que se cubre más del 87% del área de interés (Parque Natural y Parque Nacional de Sierra Nevada). De este estudio podemos concluir que el

topillo nival habita prácticamente todo el macizo nevadense, con una distribución relativamente homogénea.

El modelo de regresión logística, efectuado a partir de los datos de presencias y ausencias y las variables de caracterización para cada una de las 100 localidades prospectadas, ha puesto de manifiesto que los factores que determinan la ocupación de los canchales son el uso del suelo y la altitud. Dentro de las categorías del uso del suelo podemos decir que los topillos nivales rechazan los canchales situados en masas forestales, y muestran cierta preferencia por los canchales situados en un entorno de pastizal psicroxerófilo. En cuanto a la altitud, que también fue un factor determinante, las poblaciones de topillo nival en S.Nevada empiezan a hacerse presentes a partir de los 2000m s.n.m., coincidiendo con la cota a partir de la cual se encuentran los fenómenos glaciares y periglaciares que dieron lugar a la aparición de los canchales en los que habitan los neverones.

En cuanto a la evaluación de la abundancia relativa de las poblaciones de topillo nival, el índice de capturabilidad presenta unos valores significativamente inferiores para S.Nevada en comparación con las poblaciones de Guadarrama y Pirineos. Este índice, definido como el número de individuos capturados en una noche utilizando 100 trampas, nos está indicando que en los canchales de S.Nevada viven menos topillos que en los de otros núcleos poblacionales estudiados, sugiriendo que en S.Nevada las poblaciones de neverones son más laxas.

Fruto de estos tres estudios podemos concluir que, en general, el topillo nival es frecuente en todos los medios adecuados (acumulaciones de rocas sueltas pero estables) de Sierra Nevada situados por encima de los 2000m. Por encima de este límite, y siempre restringido a canchales, presenta una distribución extendida y homogénea en S.Nevada, aunque las poblaciones nevadenses son significativamente menos densas que las de Guadarrama y Pirineos.

La información aquí obtenida nos permite reevaluar el estatus de conservación del topillo nival en Sierra Nevada. El macizo de Sierra Nevada es una zona geográfica definida

y aislada, de modo que la recolonización natural por topillos nivales procedentes de otras zonas de su distribución es imposible y, por tanto, el riesgo de extinción de la población nevadense de neverones es similar al de un taxón endémico. Bajo estas circunstancias, todas las reglas y definiciones de la versión 3.1. de las Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN (UICN 2001) para la evaluación del riesgo de extinción de un taxón a nivel mundial son también de aplicación a escala regional (UICN 2003). Según estos criterios de reconocimiento internacional y los nuevos datos de distribución del topillo nival en Sierra Nevada, ésta población está “**en peligro, EN**”, coincidiendo con la categoría propuesta por Soriguer y Palomo (2001). La categoría concreta que aquí proponemos es EN B1ab, cuya enunciación completa se refiere a que la población está en peligro de extinción porque la extensión de su presencia en S.Nevada es inferior a 5000 km² (12 cuadrículas UTM de 10x10 km equivalen a 1200 km²), su distribución está severamente fragmentada (restringida a canchales por encima de los 2000 m), y además se ha observado una disminución en el número de localidades, debido a la destrucción del hábitat (Pérez-Aranda *et al.* 2006). La UICN (2001) considera que un taxón “*en peligro*” es aquel que se “está enfrentando a un riesgo muy alto de extinción en estado silvestre”.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, M. J., Marchal, J. A., Martínez, S., Puerma, E., Bullejos, M., Díaz de la Guardia, R. y Sánchez, A. (2007). Characterization of satellite DNA Msat-160 from the species *Chionomys nivalis* (Rodentia, Arvicolinae). *Genética*, 130:43-51.
- Amori, G. (1999). *Chionomys nivalis* (Martins 1842). Pp. 256-257. En: Mitchell-Jones, A. J., Amori, G., Bogdanowicz, W., Krystufek, B., Reijnders, P. J. H., Spitzenberger, F., Stubbe, M., Thissen, M., Vohralík, V. y Zima, J. (eds.). *Atlas of European Mammals*. Academic Press, London, UK. 484 pp.
- Becker, A. y Bugmann, H. (2001). *Global change and mountain regions. The mountain research initiative*. IGBP Report series. Global change Newsletter. Suiza. 88 pp.
- Bienkowski, P. y Marszalek, U. (1974). Metabolism and energy budget in the snow vole. *Acta Theriologica*, 19(4):55-67.

- Bocchini, M. y Nieder, L. (1994). Habitat preferences, structure and population dynamics of *Microtus nivalis* in the Northern Apennines. *Polish Ecological Studies (Pol. ecol. Stud.)*, 20 (3-4):115-121.
- Boye, P. (1996). Zur anpassung der schneemaus (*Chionomys nivalis*) an spaltenreiche felshabitate. [Adaptation of snow vole at fissure rich rock habitats]. *Bonn. zool. Beitr.*, 46:261-273.
- Brown, J. H. (1984). On the relationship between abundance and distribution of species. *American Zoologist*, 21:877-888.
- Burgos, M., Jiménez, R. y Díaz de la Guardia, R. (1988). Comparative study of G- and C-banded chromosomes of five species of Microtidae: a chromosomal evolution analysis. *Genome*, 30:540-646.
- Burgos, M., Olmos, D. M., Jiménez, R., Sánchez, A. y Díaz de la Guardia, R. (1990). Fluorescence banding in four species of Microtidae: an analysis of the evolutive changes of the constitutive heterochromatine. *Genética*, 81:11-16.
- Casas Morales, A. (1943). Contribución al estudio del glaciario cuaternario en Sierra Nevada. *Bol. de la R. Soc. Esp. de Historia Natural*, Tomo XLI:543-574.
- Costa, T., Morla Juaristi, C. y Sainz Ollero, H. (1998). *Los bosques ibéricos. Una interpretación geobotánica*. Editorial Planeta, Barcelona. 597 pp.
- Chiarenzi, B., Erra, L. y Cantini, M. (1997). Influence of some environmental parameters on small mammals (Rodentia, Insectivora) in the Central Alps *Hystrix*, (n.s.) 9 (1-2):57-60.
- Delany, M. J. (1981). *Ecología de los micromamíferos*. Omega, Barcelona. 64 pp.
- Domínguez Alonso, E. y Aldana Padilla, D. (2001). Regresión logística. Un ejemplo de su uso en Endocrinología. Metodología científica. *Revista Cubana de Endocrinología*, 12(1):58-64.
- Fons, R. y Libois, R. (1977). Présence du campagnol des neiges *Microtus nivalis aquitanius* Miller 1908, dans les collines du Roussillon. *Vie Milieu. Serie C. Biologie Terrestre*, 27(2):279-282.
- Fowler, J., Cohen, L. y Jarvis, P. (1998). *Practical statistics for field biology*. Open University Press, Chichester, Uk. 256 pp.
- Garson, G. D. (2008). Logistic regression, from *Statnotes: Topics in Multivariate Analysis*. <http://www2.chass.ncsu.edu/garson/pa765/statnote.htm>. Consulta del 13/01/2008.

- González-Tejero, M. R., Henares, I., Joaquín Molero Mesa, J., Ortega, F., Pérez Raya, F., Pezzi, M., Sanchez Ortega, A., Tinaut, J. A. y Valle Tendero, F. (1992). *Parque Natural de Sierra Nevada. Paisaje, fauna, flora e itinerarios*. Editorial Rueda, Madrid. 520 pp.
- Gurnell, J. y Flowerdew, J. R. (1990). *Live trapping small mammals. A practical guide*. Occasional publication (The Mammal Society) ; no. 3. London. 39 pp.
- Henscher, D. A. y Jonhson, L. W. (1981). *Applied discrete choice modelling*. Croom Helm. London, United Kindom. 468 pp.
- Hsieh, F. Y. (1989). Sample size tables for logistic regression. *Statistics in medicine*, 8(7):795-802.
- Irizar, I., González, J. y Villate, I. (2002). El topillo nival *Chionomys nivalis* en Euskal Herria. Distribución, selección de hábitat y uso del espacio. *Naturzale*, 17:133-143.
- Janeau, G. (1980). Répartition écologique des micromammifères dans l'étage alpin de la région de Briançon. *Mammalia*, 44 (1):1-25.
- Janeau, G. y Aulagnier, S. (1997). Snow vole- *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Journal of Mountain Ecology*, 4:1-11.
- Kleinbaum, D. G. (1994). *Logistic regression: a self-learning text*. Springer, New York. 282 pp.
- Knox Jones, J. y Carter, C. (1980). The snow vole, *Microtus nivalis*, in the lowlands of Western Yugoslavia. *J. Mamm.*, 61 (3):572.
- Krapp, F. (1982). *Microtus nivalis* (Martins, 1842)- Schneemaus. Pp. 261-283. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II.*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Krystufek, B. y Kovacic, D. (1989). Vertical distribution of the Snow vole *Microtus nivalis* (Martins, 1842) in Northwestern Yugoslavia. *Z. Säugetierk*, 54:153-156.
- Le Louran, H. y Janeau, G. (1975). Répartition et biologie du campagnol des neiges *Microtus nivalis* Martins dans la région de Briançon. *Mammalia*, 39 (4):589-604.
- Luque-Larena, J. J. y Gosálbez, J. (2002). *Chionomys nivalis* Martins, 1842. Pp. 366-369. En: Palomo, L. J. y Gisbert, J. (eds.). *Atlas de los Mamíferos terrestres de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-SECEM-SECEMU, Madrid. 564 pp.

- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002). Microhabitat use by the snow vole *Chionomys nivalis* in alpine environments reflects rock-dwelling preferences. *Canadian Journal of Zoology*, 80:36-41.
- Marchal, J. A., Acosta, M. J., Nietzel, H., Sperling, K., Bullejos, M., Díaz de la Guardia, R. y Sánchez, A. (2004). X chromosome painting in *Microtus*: origin and evolution of the giant sex chromosomes. *Chromosome Research*, 12:767-776.
- Martínez de Pison, E. y Tello, B. (1987). *Atlas de Geomorfología*. Alianza Editorial, Madrid. 365 pp.
- Martínez Parras, J. M., Peinado Lorca, M. y Alcaraz Ariza, F. (1987). *Comunidades vegetales de Sierra Nevada (España)*. Univ. de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. 74 pp.
- Martins, C. (1842). Note sur l'*Arvicola nivalis*, nouvelle espèce de campagnol habitant la région des neiges éternelles dans les Alpes de la Suisse. *Annales des sciences naturelles. Zoologie* 2:87-100.
- Megías-Nogales, B., Marchal, J. A., Acosta, M. J., Bullejos, M., Díaz de la Guardia, R. y Sánchez, A. (2003). Sex chromosomes pairing in two Arvicolidae species: *Microtus nivalis* and *Arvicola sapidus*. *Hereditas*, 138:114-121.
- Metcheva, R., Beltcheva, M. y Chassovnikarova, T. (2008). The snow vole (*Chionomys nivalis*) as an appropriate environmental bioindicator in alpine ecosystems. *Science of the total environment*, 391:278-283.
- Molero Mesa, J., Pérez Raya, F. y Valle Tendero, F. (1992). *Parque Natural de Sierra Nevada. Paisaje, fauna, flora e itinerarios*. Editorial Rueda, Madrid. 520 pp.
- Moreno, S. y Balbontín, J. (1998). Los roedores. Ardillas, ratones y topillos. Pp. 166-273. En: Blanco, J. C. (eds.). *Mamíferos de España, II. Cetáceos, Artiodáctilos, Roedores y Lagomorfos de la Península Ibérica, Balerares y Canarias*. Editorial Planeta, Barcelona. 383pp.
- Nadachowski, A. (1991a). Systematics, geographic variation, and evolution of snow voles (*Chionomys*) based on dental characters. *Acta Theriologica*, 36 (1-2):1-45.
- Nadachowski, A. (1991b). Systematics, geographic variation, and evolution of snow voles (*Chionomys*) based on dental characters. *Acta Theriol.*, 36 (1-2):1-45.
- Nappi, A. (2002). Vertical distribution of the snow vole *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) (Rodentia, Arvicolidae) in Italy. *Hystrix*, 13 (1-2):45-52.

- Niethammer, J. (1982). *Microtus cabreræ* (Thomas, 1906)- Cabreramaus. Pp. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II.*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Pauli, H., Gottfried, M., Dirnböck, T., Dullinger, S. y Grabherr, G. (2003). Assessing the long-term dynamics of endemic plants at summit habitats. Pp. 195-207. En: Nagy, L. L., Grabherr, G., Körner, C. y Thompson, D. B. A. (eds.). *Alpine biodiversity in Europe: a Europe-wide assessment of biological richness and change*. Springer Ecological Studies, Berlin. 477pp.
- Pérez-Aranda, D., Garrido García, J. A., Carro, F., Pardavila, X. y Soriguer, R. (2006). Estatus y distribución del topillo nival (*Chionomys nivalis*) y topillo de Cabrera (*Microtus cabreræ*) en el Parque Nacional de Sierra Nevada. pp. 80. Informe técnico para el Parque Nacional de Sierra Nevada. Septiembre 2006.
- Pérez-Aranda, D., Garrido García, J. A. y Soriguer, R. (2007). *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). Ficha Libro Rojo. Pp. x1-xx. En: Palomo, L. J., Gisbert, J. y Blanco, J. C. (eds.). *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos terrestres de España. Dirección General de Conservación de la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid. (en prensa)*.
- Pucek, Z. (1969). Trap Response and Estimation of Numbers of Shrews in Removal Catches. *Acta Theriol.*, 14:403-426.
- Pucek, Z. (1981). *Keys to Vertebrates of Poland. Mammals.*, Warszawa. pp.
- Rivas-Martínez, S. (1987). *Memoria del mapa de series de vegetación de España 1:400.000.*, ICONA, Madrid. 268 pp.
- Ruiz Bustos, A. y García Sánchez, M. (1977). Las condiciones ecológicas del munsteriense en las depresiones granadinas. La fauna de micromamíferos en la cueva de la Carigüela (Piñar, Granada). *Cuadernos de prehistoria de la Univ. de Granada*, 2:7-17.
- Ruiz Bustos, A. y Padial, J. (1980). Datos sobre el *Microtus nivalis* (Martins, 1842) actual y fósil en Granada (Andalucía). *Cuadernos de Ciencias Biológicas. Universidad de Granada*, 6-7:87-94.
- Saint Girons, M. C. (1973). *Les mammifères de France et du Benelux (faune marine exceptée)*. Doin, Paris. 481 pp.

- Smith, M. H., Gardner, R. H., Gentry, J., Kaufman, D. W. y O'Farrell, M. H. (1975). Density estimators of small mammal populations. Pp. En: Golley, F. B., Petruszewicz, K. y Ryszkowski, L. (eds.). *Small mammals: their productivity and population dynamics.*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Soriguer, R. C. y Palomo, L. J. (2001). Topillo Nival, Neverón. *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). Pp. 272-273. En: Franco Ruiz, A. y Rodríguez de los Santos, M. (eds.). *Libro rojo de los Vertebrados amenazados de Andalucía*. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 336 pp.
- StatSoft, I. (2001). Statistica (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- Taborska, M. (2004). Small mammals of the Wolosate area (Bieszczady National Park, SE Poland). *Acta-Zoologica-Cracoviensia*, 47 (1-2):49-59.
- Tellería, J. L. (1986). *Manual para el censo de los vertebrados terrestres*. Santander. 278 pp.
- Titus, K., Mosher, J. A. y Williams, S. K. (1984). Chance-correlated classification for use in discriminant analysis: ecological applications. *American Midland Naturalist*, 111:1-7.
- UICN. (2001). *Categorías y criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1.*, Comisión de supervivencia de especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza y Cambridge. 33 pp.
- UICN. (2003). *Directrices para emplear los criterios de la Lista Roja de la UICN a nivel nacional y regional. Versión 3.0.*, Comisión de supervivencia de especies de la UICN. UICN, Gland, Suiza y Cambridge. 26 pp.
- UICN (2007). 2007 IUCN Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org. Descargado el 4/2/08.
- Vericad, J. R. y Meylan, A. (1973). Résultats de quelques piègeages de micromammifères dans le sud-est de l'Espagne. *Mammalia*, 37 (2):333-341.
- Wilson, D. E. y Reeder, D. A. M. (2005). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2142 pp.
- Yoccoz, N. G. y Ims, R. A. (1999). Demography of small mammals in cold regions: the importance of environmental variability. Pp. 137-144. En: Hofgaard, A., Ball, J. P., Danell, K. y Callaghan, T. V. (eds.). *Animal responses to global change in the north. Ecological Bulletins (47)*. Lund, Sweden. 187 pp.

PESO CORPORAL Y ESTRATEGIA VITAL
DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

Capítulo 2

PESO CORPORAL Y ESTRATEGIA VITAL DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

1. INTRODUCCIÓN.....	100
2. METODOLOGÍA.....	102
2.1. Características de los muestreos: periodos, número de trampas.....	102
2.2. Trampeo, manejo de los animales y toma de datos.....	106
2.3. Determinación de la condición reproductora.....	108
2.4. Determinación de las clases de edad. Criterios.....	109
2.5. Análisis estadísticos.....	110
3. RESULTADOS.....	111
3.1. Desarrollo y evolución de los individuos a lo largo del año.....	112
3.1.1. Periodo reproductor.....	112
3.1.2. Clases de edad: criterios y estructura de edades.....	113
3.1.3. Adquisición de la madurez sexual.....	116
3.1.4. Pesos y tasa de crecimiento. Comparación entre edades y sexos.....	118
3.1.5. Estudio de la pérdida de peso debido al trampeo reiterado.....	123
3.2. Evolución numérica de la población a lo largo del año.....	127
3.2.1. Número de capturas: evolución e interacción con otras especies.....	127
3.2.2. Proporción de sexos.....	133
3.2.3. Permanencia individual en el área de estudio y longevidad.....	134
4. DISCUSIÓN.....	136
4.1. Reconstrucción del ciclo vital del topillo nival en Peñalara.....	136
4.2. Comparación de algunos rasgos vitales de los neverones de Peñalara y S.Nevada.....	142
5. BIBLIOGRAFÍA.....	147

1. INTRODUCCIÓN

La estrategia vital de una especie se define a partir de una serie de parámetros tales como la tasa de crecimiento corporal, la edad de adquisición de la madurez sexual, la longevidad máxima, la supervivencia y mortalidad específica por edades, el tiempo de gestación, la duración de la estación reproductiva, el número de crías por parto y número de partos en cada periodo reproductivo, etc, etc... El estudio de la historia vital (life history) de una especie cubre, por tanto, muchos aspectos de su *ontogenia* y *reproducción* y es la base de muchas de las *características demográficas* de sus poblaciones (Peters 1983; Calder 1996). Resulta sorprendente que, al menos en mamíferos, hasta el 75% de la variabilidad interespecífica de esta amplia gama de variables se explique sólo por el **tamaño corporal** de los animales (Peters 1983).

El tamaño corporal también está en la base de los rasgos energéticos (hábitos alimenticios y estrategia metabólica -homeotermia vs. heterotermia-) y comportamentales (selección de hábitat y organización social) de una especie, y de hecho Fleming (1979) no concibe el estudio de la estrategia de vida de una especie sin tener en cuenta también esos aspectos.

El tamaño corporal se considera, pues, un parámetro de excepcional relevancia en el estudio de la historia vital de los mamíferos y de los vertebrados en general (Sauer y Slade 1987a). A modo de ilustrar la importancia que el tamaño corporal tiene en la estrategia vital de una especie, se presentan en la Tabla 2-1 una serie de rasgos biológicos fundamentales que covarían positiva o negativamente con el tamaño corporal:

Rasgos NEGATIVAMENTE correlacionados con el tamaño corporal:

- tasa de crecimiento numérico poblacional
- coste para mantener la homeotermia, con el que covarían positivamente:
 - tasa diaria de requerimientos alimenticios en relación con el tamaño
 - tasa metabólica, produciendo una reducción en la esperanza de vida
- coste de locomoción
- vulnerabilidad a la depredación y a las vicisitudes del medio
- espectro de alimentos potenciales disponibles
- espectro potencial de microhábitats utilizables

Rasgos POSITIVAMENTE correlacionados con el tamaño corporal:

- tiempo de generación y por tanto la longevidad
- habilidad competitiva (tanto intra- como interespecífica)
- dominancia social (tanto intra- como interespecífica)
- fecundidad y supervivencia (a nivel intraespecífico)
- tamaño absoluto del cerebro

Tabla 2-1.- Rasgos de la estrategia de vida de una especie que están correlacionados (positiva o negativamente) con el tamaño corporal (tomado de Fleming, 1979).

Queda patente pues la importancia crítica de este parámetro en la biología y ecología de los animales, ya que muchos procesos fisiológicos, biológicos y ecológicos están correlacionados con el tamaño corporal (Fleming 1979; Peters 1983; Sauer y Slade 1987b; Sauer y Slade 1987a; Hansson y Jaarola 1989; Iskjaer *et al.* 1989; Dobson 1992; Hansson 1992; Boonstra *et al.* 1993; Calder 1996; Paradis *et al.* 1998; Rosário y Mathias 2004). El consenso sobre el tamaño corporal se rompe a la hora de cuantificarlo para su estudio. Las medidas más comúnmente usadas para reflejar el tamaño corporal son la longitud lineal del cuerpo (excluida la cola, en el caso de animales que la posean), la masa del animal, o mediante aproximaciones multivariantes de componentes principales de varias medidas morfológicas. En los micromamíferos, se ha comprobado que la variación intraespecífica del tamaño corporal se debe fundamentalmente a la variación en el peso corporal (Sauer y Slade 1987a; Iskjaer *et al.* 1989; Boonstra *et al.* 1993). De modo que este será el parámetro que nosotros utilizaremos de aquí en adelante como medida del tamaño corporal.

En este capítulo nos vamos a centrar en el estudio del peso corporal de los topillos nivales para reconstruir su ciclo vital. Analizaremos primero las diferencias y la evolución temporal del peso corporal en hembras y machos y en animales reproductores y no reproductores. Estos análisis nos permitirán establecer unos criterios para la distinción entre clases de edad, lo que a su vez nos informará de la estructura de edades de la población y de su variación a lo largo del año, así como de la duración del periodo reproductor y del momento (peso) de adquisición de la madurez sexual. Además de estos parámetros sobre la biología reproductiva, los muestreos sistemáticos y periódicos nos aportarán información sobre la abundancia relativa de nuestras poblaciones, y su oscilación anual. En definitiva, los resultados que obtengamos nos permitirán reconstruir la historia vital de los topillos nivales a nivel individual y sus consecuencias a nivel poblacional.

2. METODOLOGÍA

2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS MUESTREOS: PERIODOS, NÚMERO DE TRAMPAS...

Sierra Nevada

El estudio de la evolución del peso en Sierra Nevada se ha realizado en base a los animales capturados a lo largo de nueve periodos de muestreo, cada uno de tres noches de duración y efectuados con una periodicidad estacional a partir de mayo de 2004. Los muestreos correspondientes a las épocas invernales no pudieron realizarse porque la abundancia de nieve en Sierra Nevada no permite acceder (ni trabajar) en la zona de estudio (> 2500m s.n.m.). Utilizamos 60 trampas de vivo. Excepcionalmente, en agosto de 2004 mantuvimos las trampas activas durante ocho noches consecutivas, cambiando de posición algunas de ellas a las tres o cuatro noches con el objetivo de ampliar el área muestreada y aumentar el número de animales nuevos capturados. El cambio de posición de algunas trampas implicó tanto darles una nueva ubicación dentro del mismo canchal, como ampliar el muestreo a dos canchales de menor tamaño, y próximos (aprox. 150m) al área principal de estudio. Las dimensiones, distancias y posición relativa de estos canchales se ilustran en la Figura 2-1 (en página 105). A lo largo de esos ocho días de

muestreo encontramos dos topillos que fueron capturados inicialmente en estos canchales secundarios (uno en cada canchalito) y posteriormente fueron recapturados en el canchal principal, poniendo de manifiesto que es importante tener en cuenta el movimiento entre zonas adyacentes en la dinámica de esta especie. A partir de entonces, redefinimos el diseño de muestreo de forma que en subsecuentes muestreos utilizaríamos 40 trampas para el canchal principal, y diez en cada uno de estos pequeños canchales adyacentes, y consideramos las tres zonas de trampeo como parte de una única colonia. Sumando estas tres áreas la malla de trampeo ocupó una superficie de 0.56 hectáreas.

El muestreo de agosto de 2004 en Sierra Nevada marcó un segundo hito para nosotros en otro (triste) aspecto. Hasta entonces habíamos estado empleando trampas de vivo de tipo rejilla modelo Hipólito, de medidas 41x10x10cm, y constituidas por una base de madera y malla de rejilla con una luz de 1.2x1.2cm para las paredes y techo (Figura 2-2). El cebo se fija a un gancho que a su vez bloquea el cierre de la trampa. Cuando el animal jala o tira del cebo el bloqueo se libera y la puerta se cierra, quedando éste encerrado en el interior.



Figura 2-2.- Trampa de vivo de tipo rejilla modelo Hipólito.

Se trata de trampas relativamente grandes, pesadas e incómodas de transportar, aspectos que quedan compensados por la gran ventaja de proporcionar un mayor éxito de captura que otras trampas (Carro *et al.* 2007). Sin embargo, de nada sirvió esta ventaja cuando en la última revisión del muestreo de agosto de 2004 nos encontramos con el lamentable panorama de que al menos dos (y posiblemente tres) topillos nivales capturados durante la noche, habían sido devorados desde el exterior de la trampa. Encontramos únicamente las cabezas de los animales que los depredadores no consiguieron llevarse pues los cráneos no cabían por la luz de la malla (Figura 2-3). Se discutirá más sobre este episodio de depredación en el apartado correspondiente. Por ahora, lo que en este punto queremos reflejar es que tras esta masacre desechamos de inmediato el uso de las trampas de rejilla, y utilizamos únicamente trampas Sherman, en las que, al ser cerradas y de aluminio, el animal no está accesible desde el exterior. Las trampas Sherman se describieron con más detalle en la metodología del Capítulo 1.



Figura 2-3.- Topillo nival devorado dentro de una trampa de rejilla. Sólo queda el cráneo, lo único que el depredador (probablemente un lirón) no pudo llevarse, porque por su tamaño no cabe a través de la malla metálica.

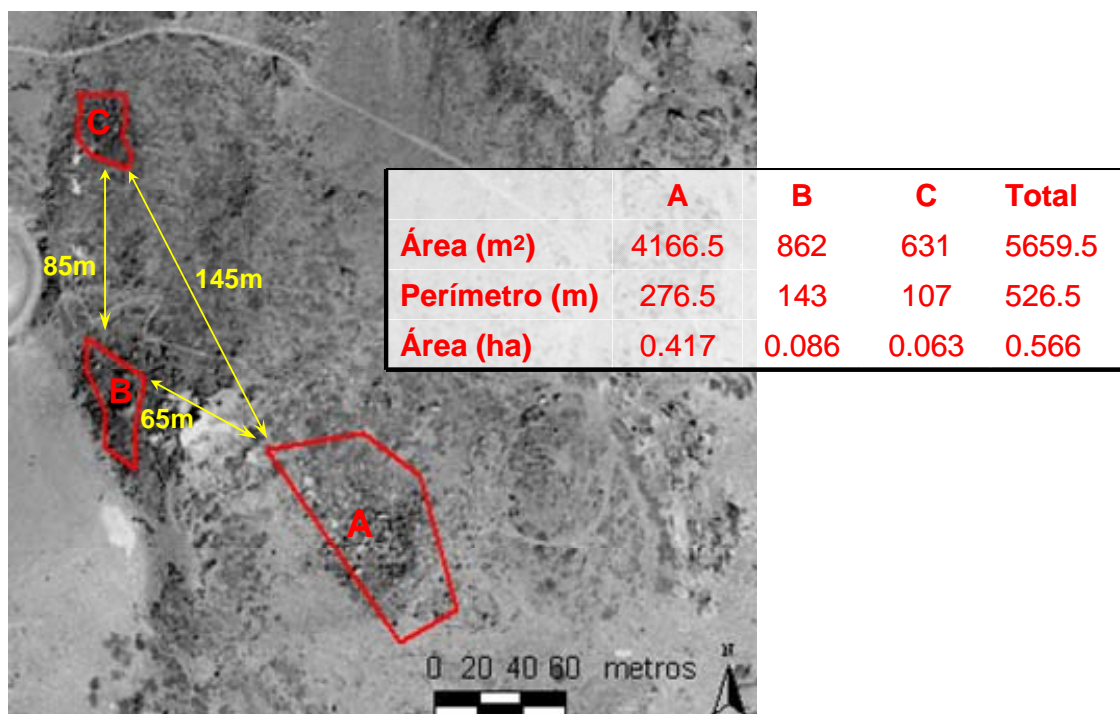


Figura 2-1.- Foto aérea de las áreas de trampeo en S.Nevada. Se trata de tres canchales próximos, de los cuales el canchal A es el que abarca una mayor superficie y número de trampas (40). En los canchales B y C se colocaban 10 trampas en cada muestreo. En la tabla inserta en la figura se recogen las dimensiones de los tres canchales y el sumatorio.

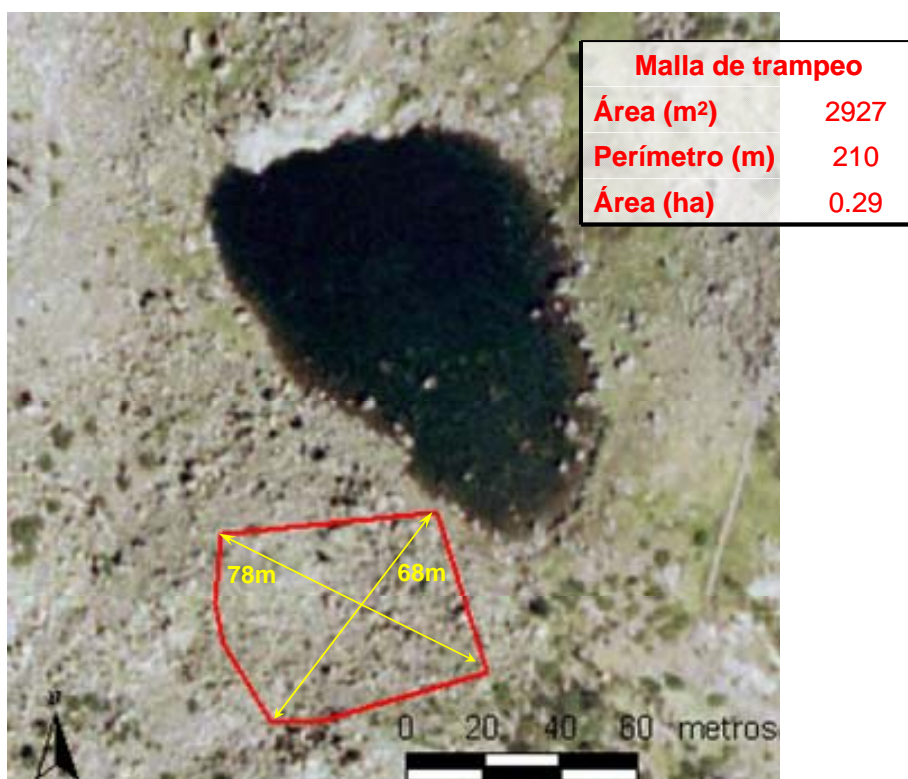


Figura 2-4.- Foto aérea del area de trampeo de Peñalara. Se trata de una porción de un canchal más grande que se extiende ladera arriba. Se distribuyeron 60 trampas. En la tabla inserta en la figura se recogen las dimensiones de la malla de trampeo.

Peñalara

En la colonia de Peñalara el seguimiento se inició en otoño de 2004, por lo que contamos con siete sesiones de muestreo, igualmente cada una de tres noches de duración. Al igual que en Sierra Nevada los muestreos se repitieron estacionalmente hasta octubre de 2006, con la excepción de los muestreos correspondientes a los periodos de invierno que no pudieron realizarse debido a que la gruesa capa de nieve entorno al Pico de Peñalara (Madrid, Sistema Central) hace impracticable el acceso hasta la zona de trabajo. El muestreo de septiembre-04 se realizó únicamente con 15 trampas para evaluar la potencialidad de la colonia de estudio. A partir de entonces se usaron sistemáticamente 60 trampas Sherman que fueron colocadas en la misma ubicación en cada muestreo. El área cubierta por la malla de trampeo alcanzó las 0.3 hectáreas (c.f. Figura 2-4). La Tabla 2-2 recoge el calendario de muestreos en ambas localidades.

Nº muestreo	Estación	S.Nevada	Peñalara
1	Primavera	Mayo_04	x
2	Verano	Agosto_04	x
3	Otoño	Noviembre_04	Septiembre_04
4	Primavera	Mayo_05	Junio_05
5	Verano	Agosto_05	Agosto_05
6	Otoño	Octubre_05	Octubre_05
7	Primavera	Junio_06	Junio_06
8	Verano	Agosto_06	Agosto_06
9	Otoño	Octubre_06	Octubre_06

Tabla 2-2.- Calendario de los muestreos efectuados en S.Nevada y en Peñalara.

2.2. TRAMPEO, MANEJO DE LOS ANIMALES Y TOMA DE DATOS

En ambas localidades las trampas se colocaron lo más cercanas posibles a sitios de paso de neverones, identificados bien por la presencia de excrementos aislados o formando letrinas, o por la presencia de restos de vegetación cortados y almacenados para su consumo en invierno. Cuando no se encontraron sitios adecuados con evidencias de presencia de topillo nival próximas, las trampas se colocaron en oquedades profundas, y en

todos los casos escondidas entre las rocas tanto para aprovechar la cobertura y protección de las mismas frente a las oscilaciones térmicas (exceso de calor durante el día, riesgo de heladas por la noche, lluvia, etc...), como para que pasasen desapercibidas a posibles excursionistas. La distancia entre las trampas fue de entre 4 a 10m.

Las trampas se cebaron con pan impregnado en aceite de oliva, una ración de pipas de girasol y semillas para roedores (preparado comercial), como aporte energético extra, especialmente indicado cuando las temperaturas empiezan a recrudecer, y unos trocitos de manzana, como aporte hídrico. Además se proveyeron con algodón como material térmico y aislante y para la fabricación de un nido, y se forraron exteriormente con film transparente para evitar la entrada de agua de lluvia o del rocío a través de las uniones de las planchas de aluminio que conforman la trampa. Las trampas se dejaron activas de forma continua durante los tres días de duración de cada muestreo y eran revisadas al menos tres veces al día: al amanecer, al medio día y al anochecer.

En cada ocasión se anotaba la fecha y la hora de cada revisión. Los neverones capturados eran identificados individualmente mediante la aplicación de un microchip electrónico o transponder (el nombre transponder deriva de las palabras en inglés: *transmitter* + *responder*). Este dispositivo electrónico permite almacenar un código numérico único de 15 dígitos, información que *transmite* a un lector de transponders como *respuesta* a una señal eléctrica enviada por el mismo lector. Se usaron transponders modelo Musicc de 8mm de largo por 2mm de diámetro y 0.05g de peso de Avid, y lector Minitracker II, también de Avid. Los microchips fueron implantados subcutáneamente a través de una aguja hipodérmica de 12G. Los transponders permiten el marcaje permanente e inequívoco de los individuos mediante un método inocuo para los animales.

Además del marcaje individual de los animales, los topillos capturados eran pesados con dinamómetros (marca Pesola) de 50g de calibre máximo y 0.5g de precisión, o de 100g de calibre (± 1 g de precisión), para los animales más pesados.

2.3. DETERMINACIÓN DE LA CONDICIÓN REPRODUCTORA

La condición reproductora de los animales también fue determinada en el campo. Los machos fueron clasificados bien como individuos reproductores o como no reproductores. A las hembras, por su parte, se les asignó una de las siguientes categorías: gestantes, lactantes, lactancia recién acabada, hembras que han copulado recientemente o hembras no reproductoras; a excepción de esta última categoría, todas las anteriores representan distintos estadios de la condición reproductora en las hembras. La distinción entre estas categorías se basó en la siguiente clasificación (Gurnell y Flowerdew 1990; Irizar *et al.* 2002):

- machos escrotados: si tienen el escroto pigmentado, generalmente acompañado de descenso testicular, pero no siempre
- machos no escrotados: si no presentan las características anteriores
- hembras gestantes: en las que se aprecia los embriones por palpación del abdomen
- hembras lactantes: si presentan pezones abultados, limpios de pelo y es posible la extracción de leche al presionarlos
- hembras que ya han acabado de dar de mamar: si los pezones ya no son tan conspicuos como en el caso anterior, están más endurecidos y ya no sale leche al apretar
- hembras perforadas: aquellas que han tenido un encuentro sexual reciente y presentan la vagina abierta, o con un tapón mucoso, a veces sanguinoliento
- hembras no reproductoras: aquellas que no presentan ninguna de las características mencionadas.

La distinción del sexo en los animales no reproductores se ha basado en la distancia genito-anal, siendo ésta superior en machos que en hembras (Gurnell y Flowerdew 1990).

La captura de individuos con signos de actividad sexual, así como la presencia de crías entre los animales capturados nos permitió determinar el periodo de reproducción en las colonias de estudio.

2.4. DETERMINACIÓN DE LAS CLASES DE EDAD. CRITERIOS

Existen en la bibliografía numerosos métodos que permiten determinar la edad relativa, e incluso la edad absoluta de los animales de forma precisa (Morris 1972). Entre los métodos mayormente aplicados en micromamíferos destacan la determinación de la edad en base al peso seco del cristalino (estructura ectodérmica de crecimiento continuo, su peso por tanto dependerá de la edad del animal) (Gourley y Jannett 1975) y en base a la cantidad acumulada de tirosina (proteína insoluble) en el cristalino mediante estimación colorimétrica (Dapson y Irland 1972). Sin embargo, aunque ambas técnicas son precisas, (Larson y Taber 1980), implican la muerte de los animales para su examen, además de haber efectuado un control en animales cautivos para establecer la curva de crecimiento. Además, tampoco es nuestro objetivo estimar la edad absoluta en días o en semanas de los individuos, sino que estamos interesados en distinguir entre clases de edad.

En el estudio de poblaciones animales se distinguen típicamente al menos dos clases de edad: jóvenes y adultos pues contribuyen de distinta manera al funcionamiento de la dinámica poblacional. En micromamíferos, por lo general se distinguen tres clases: juveniles, subadultos y adultos, en base al peso, el pelaje y la condición reproductora (Gurnell y Flowerdew 1990). En este apartado queremos establecer los criterios para la determinación de las clases de edad de los neverones de S.Nevada y de Peñalara.

Nos centraremos inicialmente en la distinción entre las clases *adultos* vs. *jóvenes*, incluyendo esta categoría a los juveniles y subadultos. Se define como adultos aquellos individuos que han adquirido la madurez sexual y son capaces de reproducirse. Por tanto, el mejor momento para distinguir entre jóvenes y adultos es precisamente durante la época reproductora, cuando los animales presentan signos evidentes de reproducción (testículos escrotados, preñez, mamas dilatadas...). Sin embargo, la distinción entre éstas dos clases de edad, solo basada en la presencia/ausencia de signos de reproducción está limitada a la época reproductiva, y además puede llevarnos a error en los casos, por ejemplo, en los que un animal sea adulto pero no se está reproduciendo por inhibición mediada por otros individuos, falta de recursos, enfermedad, etc, etc... Por ello es necesario establecer criterios de edad independientes de la presencia de signos de reproducción, como puede ser

la adquisición de un tamaño corporal mínimo. El **peso corporal**, como medida del tamaño del animal, está muy relacionado con el momento en que un animal alcanza la edad reproductiva ya que sólo una vez que el animal haya alcanzado un tamaño apropiado, la demanda energética que requiere el crecimiento cesará, pudiendo invertir esta energía ahora en el esfuerzo reproductor (Fleming 1979).

Para determinar el punto de corte entre adultos y jóvenes realizamos un análisis exploratorio del peso de los individuos durante el periodo reproductor en relación a su condición reproductora. Por tanto excluimos de éstos análisis los pesos de los muestreos de octubre (periodo no reproductor). El análisis se hizo separadamente para hembras y machos, y tuvimos en cuenta únicamente el peso de los individuos registrado en la primera captura de cada sesión de muestreo, para evitar posibles efectos del trampeo sucesivo sobre el peso de los animales (aspecto que analizamos más adelante en la sección 3.1.5. de este capítulo). La distinción entre las clases de edad de adultos y jóvenes vendrá marcada por el menor peso encontrado en los animales con signos externos de actividad sexual.

Por su parte, la distinción dentro de los jóvenes entre *juveniles* vs. *subadultos* es algo más subjetiva. Los juveniles se reconocen a simple vista por su menor tamaño, pelaje más sedoso y suave al tacto y porque no hace falta pesarlos ni examinarlos para saber que no son reproductores debido a su pequeño tamaño.

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Dadas las características de los datos se utilizaron técnicas estadísticas no paramétricas (Siegel y Castellan 1988; Fowler *et al.* 1998). Para las comparaciones entre dos grupos independientes: sexo (hembras vs. machos), localidad (S.Nevada vs. Peñalara), estado reproductor (reproductor vs. no reproductor) y edad (jóvenes vs. adultos) se utilizó el test de la U de Mann-Whitney. Para las comparaciones entre más de dos grupos independientes (e.g. entre periodos de muestreo) aplicamos el test de Kruskal-Wallis. Las regresiones lineales de Pearson se utilizaron para analizar la proporcionalidad entre dos variables (e.g. variación del peso corporal según aumenta el número de recapturas). Para

analizar si dos variables dicotómicas están asociadas (e.g. frecuencia de hembras vs. frecuencia de machos y frecuencias observadas vs. frecuencias esperadas) cuando el número de casos es menor de 20 y alguna frecuencia esperada es menor de 5, utilizamos el Test exacto de Fisher -de dos colas- (Siegel y Castellan 1988). Cuando una de estas variables no fue dicotómica sino que presentó más de dos alternativas (e.g. el número de periodos de muestreo) se utilizó el test de Chi-cuadrado.

Los análisis estadísticos fueron ejecutados en el programa STATISTICA v. 6.0. (StatSoft 2001) y se consideraron diferencias significativas a partir de un valor de $p < 0.05$.

3. RESULTADOS

Hemos organizado la presentación de los resultados obtenidos en este capítulo en dos secciones. En la primera sección analizamos las fases de desarrollo y evolución de los individuos, las cuales determinarán el funcionamiento reproductor de la colonia; mientras que en la segunda aumentamos la escala para estudiar las consecuencias demográficas que ese funcionamiento tiene numéricamente sobre la colonia. En cuanto a este aspecto numérico, matizar que en este capítulo utilizaremos las capturas como medida de la abundancia relativa, lo que nos permite comparar entre ambas colonias, mientras que en el siguiente capítulo se elaborará un modelo para estimar la abundancia absoluta y densidad de topillo nival en las mismas.

Por último comentar que, aunque cronológicamente iniciamos los muestreos de seguimiento antes en la colonia de S.Nevada que en la de Peñalara, y por eso hemos descrito en primer lugar la metodología y área de trabajo de S.Nevada, vamos a invertir en este apartado el orden de exposición de los resultados, pues como se verá, en Peñalara encontramos un mayor tamaño poblacional, que nos permite efectuar análisis más completos. De este modo, para cada uno de los subapartados siguientes, comentaremos primero los resultados obtenidos para Peñalara, seguidos de los de S.Nevada para, finalmente, compararlos siempre que sea posible.

3.1. DESARROLLO Y EVOLUCIÓN DEL PESO DE LOS INDIVIDUOS A LO LARGO DEL AÑO

3.1.1. Periodo reproductor

En Peñalara:

La duración del periodo de reproducción en Peñalara se determinó en base a la presencia/ausencia de los signos externos de reproducción en los animales. En ambos años (2005 y 2006) encontramos hembras reproductoras en la primera semana de junio, estando algunas preñadas y otras lactantes. Además, en la primera semana de junio-06 se capturaron siete juveniles, cuyo peso varió entre los 14 y los 26g. No hay datos referentes a la tasa de crecimiento para las crías de topillo nival, por lo que hemos utilizado datos procedentes de otras especies de microtininos para estimar la edad de estas crías. Innes y Millar (1994) encontraron una alta correlación del peso de las hembras adultas con el peso de las crías al nacer y con la tasa de crecimiento de estas hasta el destete, en 12 especies de microtininos. Así utilizaremos los datos de otras especies de topillos con un tamaño para los adultos y para los neonatos similar a *C.nivalis*. *Microtus californicus* con un peso adulto próximo a los 50g, y un peso al nacer de 3.2 tiene una tasa de crecimiento de 1.1g/día durante el primer mes (Nadeau 1985). *M. oeconomus*, con unos 50g los adultos y 3.3g al nacer crece a una tasa de 1g/día durante los primeros 16 días (Ims 1997), *M.breweri*, con 54 y 3.5g para los adultos y neonatos respectivamente tiene una tasa de crecimiento de 0.8g/día (Innes y Millar 1994) y *M.cabrerae* con un peso entre 50-60g para los individuos adultos y de 3.5g para los neonatos de 0.7g/día aproximadamente (Fernández-Salvador *et al.* 2001). Basándonos en estas tasas de crecimiento, y partiendo de un peso medio de 3.6g para los neonatos de topillo nival (Frank 1954), el juvenil de 26g tendría una edad de entre 21 y 30 días, en la primera semana de junio. Si a ello le restamos los 20-22 días que es el tiempo de gestación observado para esta especie (Frank 1954; Kahmann y Halbgewachs 1962), las primeras cópulas, y con ellas el inicio de la época de cría, se situarían entre la segunda y la tercera semana de abril. En cuanto a la evidencia más tardía de reproducción, la tenemos en una hembra preñada a mitad de septiembre de 2004. Es decir, el periodo de reproducción en Peñalara dura cinco meses, desde mitad de abril hasta mitad de septiembre.

En Sierra Nevada:

La duración del periodo reproductor se calculó de la misma manera en la colonia de S.Nevada. En esta localidad detectamos los primeros signos de reproducción en una hembra en estado de gestación avanzado el 5 de mayo-04. Puesto que la gestación aún no había llegado a término, y dado que el periodo de gestación en esta especie es de 20-22 días, podemos estimar que las primeras cópulas no se producen hasta la tercera semana de abril, como pronto. La evidencia más tardía de reproducción activa la aporta una hembra preñada a mitad de agosto-04. A finales de agosto-05 todas las hembras capturadas habían acabado ya de amamantar y ningún macho presentó testículos escrotados. El periodo de reproducción en S.Nevada dura unos cuatro meses, a partir de la tercera-cuarta semana de abril, hasta final de agosto.

3.1.2. Clases de edad: criterios y estructura de edades

En Peñalara:

Jóvenes vs. adultos: El análisis combinado del peso corporal y la condición reproductora durante el periodo reproductor nos permitió determinar que las hembras se reproducen a partir de los 40g de peso y los machos, a partir de los 50g (Figura 2-5). Estos puntos de corte marcarían la diferencia entre jóvenes y adultos en cada sexo, con sólo una excepción entre 33 hembras y dos excepciones entre 39 machos, y que se discutirán en el apartado correspondiente.

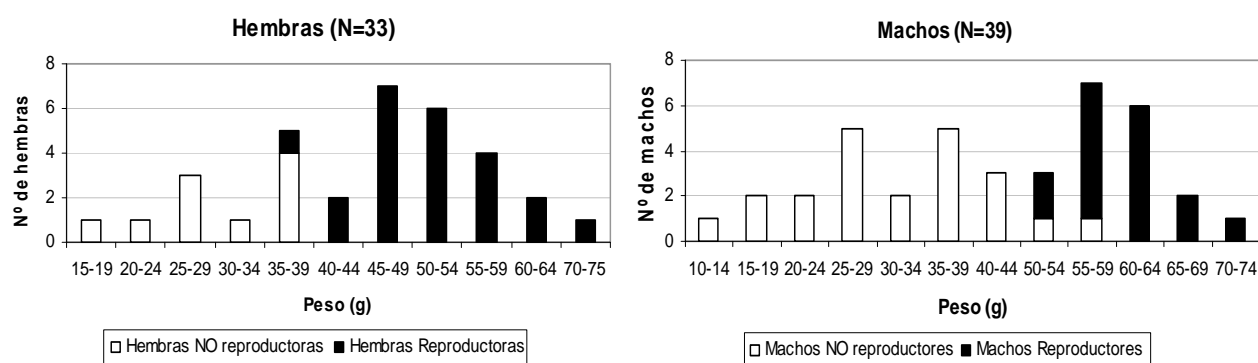


Figura 2-5.- Determinación del peso a partir del cual las hembras (a la izquierda) y los machos (a la derecha) son adultos reproductores en la colonia de Peñalara.

Juveniles vs. subadultos: Las características descritas en el apartado de metodología atribuibles a los individuos juveniles fueron encontradas en animales de ambos sexos con un peso inferior a 30g.

Estructura de edades: En base a los puntos de corte obtenidos para la determinación de las clases de edad (resumidos en la Tabla 2-3), obtuvimos que el número de individuos juveniles, subadultos y adultos varía a lo largo de los muestreos en Peñalara según ilustra la Figura 2-6. No obstante, y como se ha mencionado anteriormente, el establecimiento del punto de corte entre juveniles y subadultos no es del todo objetivo y puede resultar algo artificial, pudiendo inducir a errores o generar ruido. Por ese motivo, vamos a ceñir el resto de los análisis y la discusión a las dos clases de edad para las que contamos con un criterio fiable y objetivo para su distinción: adultos y jóvenes (quedando agrupados en esta clase juveniles y subadultos).

Dicho esto, si volvemos a analizar la evolución de la estructura de edades podemos observar un claro patrón emergente en el que adultos y jóvenes tienen tendencias poblacionales completamente opuestas: de primavera a invierno el número de jóvenes va aumentando mientras que el de adultos disminuye (Figura 2-7).

	Juveniles	Subadultos	Adultos
Hembras	<30g	30-40g	>40g
Machos	<30g	30-50g	>50g

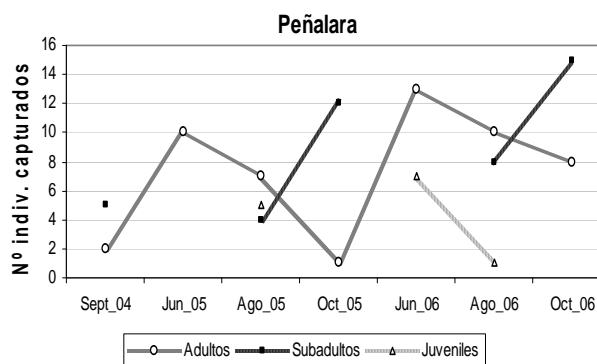


Tabla 2-3.- Puntos de corte para la distinción de clases de edad en base al peso en la colonia de Peñalara.

Figura 2-6.- Proporción y evolución numérica de cada clase de edad en la colonia de Peñalara en base a los criterios establecidos en la Tabla X-3.

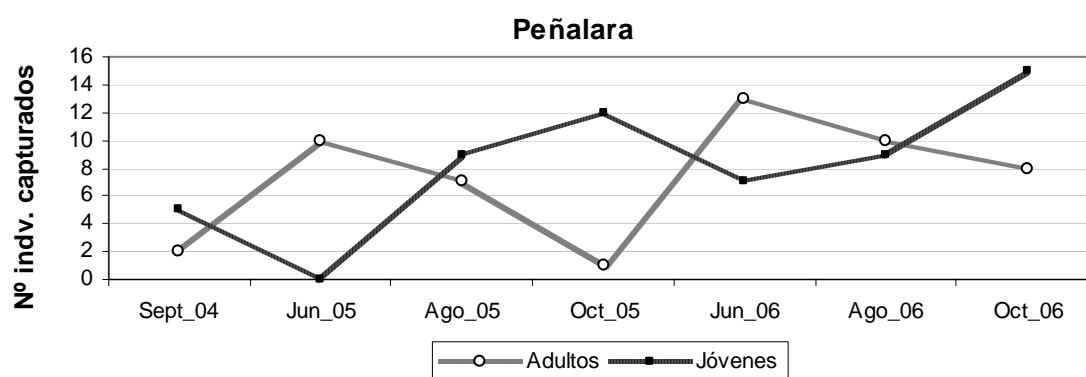


Figura 2-7.- Evolución del número de adultos y jóvenes (agrupa juveniles y subadultos) en la colonia de Peñalara en base a los criterios establecidos en la Tabla X-3.

En Sierra Nevada:

Jóvenes vs. adultos: Planteamos la misma comparación que en Peñalara, sin embargo, los análisis no nos permitieron establecer un punto de corte entre jóvenes y adultos, a partir del cual las hembras son reproductoras, porque todas las hembras capturadas (N=16) en primavera y verano presentaron signos de reproducción. Sí podemos concluir que las hembras en S.Nevada son reproductoras al menos desde los 30g de peso. Los machos adquieren la madurez sexual entre los 35-40g, al igual que las hembras, con un peso corporal menor que los topillos de Peñalara (Figura 2-8).

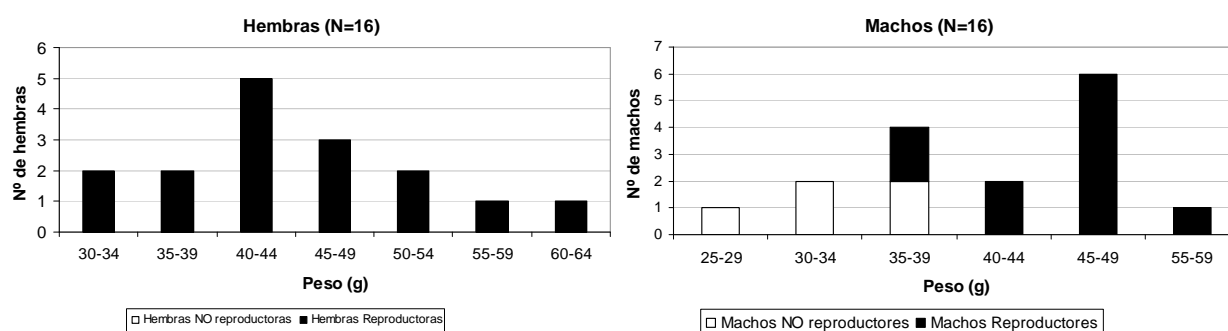


Figura 2-8.- Determinación del peso a partir del cual las hembras (a la izquierda) y los machos (a la derecha) son adultos reproductores en la colonia de Sierra Nevada.

Juveniles vs. subadultos: En Sierra Nevada tampoco fue posible la distinción entre subadultos y juveniles, dado el escaso número de jóvenes capturados y la poca variabilidad en el peso y resto de características externas que estos presentaron. Los machos considerados como jóvenes tuvieron un peso medio de $31.6 \pm 1.8\text{g}$ ($N=8$), y muy posiblemente todos eran subadultos. Sólo una hembra fue considerada como joven (con 29g), en octubre-05.

Estructura de edades: La evolución numérica en Sierra Nevada sigue un patrón parecido al de Peñalara, con tendencias opuestas para jóvenes y adultos, sólo durante el primer año. Después adultos y jóvenes siguen tendencias más o menos paralelas, ambos con muy bajos efectivos, menores aún para los jóvenes (Figura 2-9).

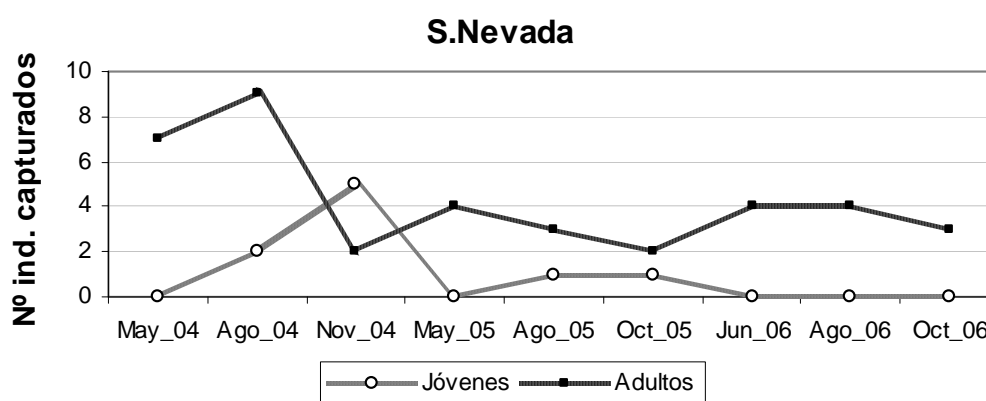


Figura 2-9.- Evolución del número de adultos y jóvenes (agrupa juveniles y subadultos) en la colonia de Sierra Nevada.

3.1.3. Adquisición de la madurez sexual

En Peñalara:

En el apartado anterior hemos establecido el punto de corte entre los jóvenes y los adultos en base al peso, pero ¿durante cuánto tiempo los individuos se consideran “jóvenes”? o dicho de otro modo, ¿cuándo adquieren la madurez sexual los individuos en Peñalara?

A partir de los individuos capturados por primera vez como jóvenes y recapturados en ocasiones sucesivas hemos realizado un estudio de la evolución del peso a lo largo del tiempo, para determinar cuánto tiempo tardan en alcanzar la talla de los individuos reproductores. En todos los casos, tanto las hembras como los machos superan los 40 y los 50g, respectivamente, tras haber superado su primer invierno de vida (Figura 2-10). Esto quiere decir, que si los topillos navales nacen a finales de la primavera o principios del verano, hasta la siguiente primavera no serán reproductores.

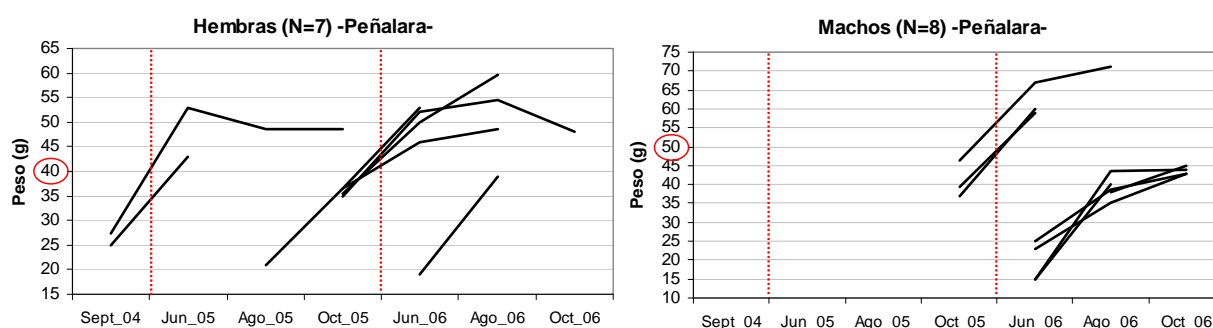


Figura 2-10.- Evolución del peso de siete hembras (gráfica izquierda) y de ocho machos (gráfica derecha) a lo largo de los periodos de muestreo. En todos los casos, los individuos que adquieren la talla reproductora (marcada con un círculo rojo), lo hacen después de haber pasado el invierno (indicado con línea roja discontinua).

En Sierra Nevada:

En S.Nevada sólo tenemos un individuo capturado por primera vez como joven y del que tenemos registros consecutivos. Se trata de la hembra N17, capturada el 04/11/2004, con 29.5g y posteriormente el 05/05/2005, con 54g y preñada. Es decir, esta hembra sigue el mismo patrón que los individuos de Peñalara: pasado el invierno se recaptura ya como adulto reproductor.

3.1.4. Pesos y tasa de crecimiento. Comparación entre edades y sexos

En Peñalara:

La determinación de la curva de crecimiento postnatal implica el seguimiento y control periódico (registro del peso) de las crías desde el día de su nacimiento, lo que sólo es posible en condiciones de cautividad, no contempladas en este estudio. En junio del 2006 capturamos siete crías, que posteriormente han sido recapturadas en agosto y en octubre, permitiéndonos obtener, no estimas diarias de la tasa de crecimiento desde su nacimiento, sino estimas a lo largo de dos grandes intervalos de tiempo: desde la primera captura como crías en junio-06 hasta su segunda captura en el muestreo de agosto-06, y de este a octubre-06, es decir, tenemos estimas bimensuales de la tasa de crecimiento durante los primeros cuatro meses de vida.

El incremento medio de peso de las crías en el primer intervalo de tiempo ha sido de $18.8 \pm 6.9\text{g}$, mientras que en el segundo intervalo se ha reducido a $4.3 \pm 3.8\text{g}$. Llama la atención en las tres únicas crías capturadas en las tres ocasiones que, a pesar de la diferencia en el peso en las capturas de junio-06 (15, 23 y 25g, respectivamente), todas alcanzan el mismo peso en octubre-06 (43-44g) (Tabla 2-4). Lamentablemente, este bajo tamaño muestral y el hecho de que se trata de tres crías todas del mismo sexo (machos) no nos permite testar diferencias intersexuales. Sin embargo, los pesos medios de los jóvenes en octubre (aunando los años 2005 y 2006), sí presentan un peso superior para los machos ($39.6 \pm 4.7\text{g}$; $N = 14$) que para las hembras ($37 \pm 1.9\text{g}$; $N = 13$), aunque las diferencias no son significativas (Mann-Whitney U Test = 54.5; $p = 0.09$). Los 43-44g con los que estas tres crías son capturadas en octubre-06 constituyen, precisamente, los pesos máximos registrados para las crías en otoño. Con respecto a los incrementos de peso que muestra la Tabla 2-4, indicar que se producen a lo largo de dos meses, con lo que las tasas de crecimiento, expresadas como gramos/mes, serían, simplemente esos mismos valores divididos entre dos.

ID	Peso(g)			Incremento de peso (g)	
	Junio_06	Agosto_06	Octubre_06	Junio a agosto	Agosto a octubre
N40	25	38.5	43	13.5	4.5
N41	26	39.5		13.5	
N42	23	35	43	12	8
N44	15	43.5	44	28.5	0.5
N45	15	40		25	
N46	14				
N47	19	39		20	

Tabla 2-4.- Peso e incremento de peso de los siete juveniles capturados en junio-06 y en sus subsiguientes recapturas.

Estas observaciones apuntan que: 1) evidentemente, la tasa de crecimiento es mayor durante las primeras semanas de edad que pasados los dos meses desde el nacimiento (Mann-Whitney U Test = 0; $p = 0.024$), y que 2) parece que, independientemente de la fecha de nacimiento de las crías, y de sus pesos en la captura de junio, las tasas de crecimiento de los dos periodos se ajustan de tal modo que para mediados-finales de octubre los animales alcanzan un peso entorno a los 40g para pasar el invierno. Este ajuste o compensación de las tasas de crecimiento se puede observar en los análisis de regresión de Pearson de la Figura 2-11, que indican una fuerte relación negativa entre el peso de los animales al inicio de cada periodo, y el aumento de peso a lo largo de ese periodo, es decir, que cuanto menor sea el peso del animal, mayor será su crecimiento.

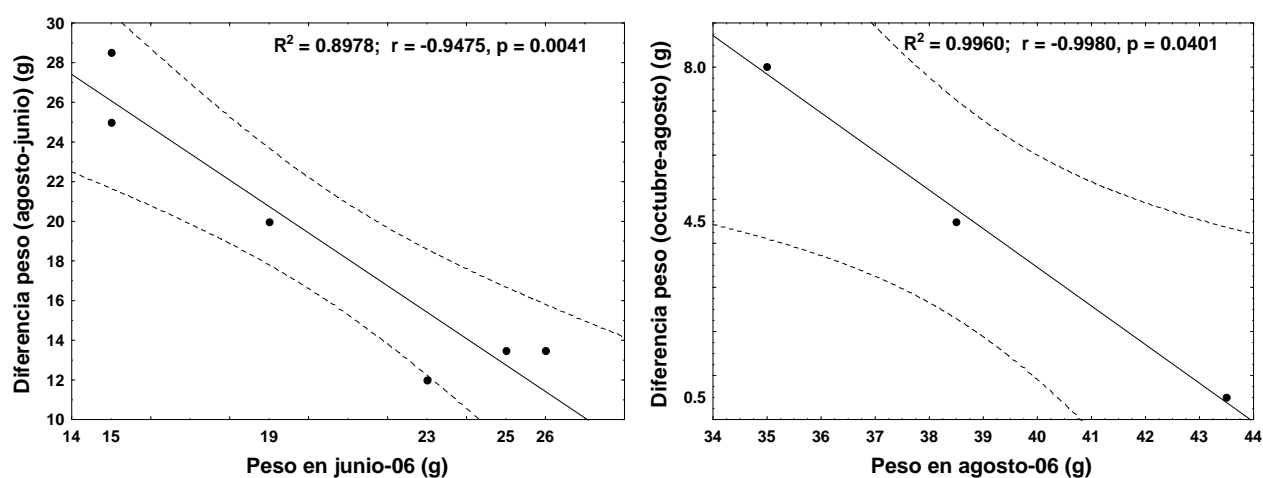


Figura 2-11.- Regresiones lineales entre el peso al inicio del intervalo y el peso adquirido a lo largo del mismo en dos intervalos de tiempo: entre junio y agosto (a la izquierda), y entre agosto y octubre (a la derecha).

Con lo expuesto hasta ahora en este apartado y el anterior, tenemos que los jóvenes nacen en primavera y van aumentando de peso hasta otoño, y que en la primavera siguiente alcanzan la madurez sexual, con 40g ellas, y 50g ellos, pero ¿cuándo y cómo los machos reproductores llegan a acumular al menos 10g más de peso que las hembras reproductoras?

De los 64 topillos nivales capturados en Peñalara sólo 12 han llegado a sobrevivir un invierno y ser capturados en la primavera siguiente (c.f. calendario de capturas Tabla 2-9). A partir de éstos individuos hemos realizado una serie de análisis para estudiar las diferencias intersexuales en el peso adquirido en otoño y en la siguiente primavera, así como en las tasas de crecimiento, calculadas como [(peso en primavera – peso en el otoño anterior)/número de meses] (Tabla 2-5). De estos 12 individuos, hemos descartado de los análisis al macho N4 pues en otoño ya partía de un peso muy alto (53g), y además sólo acumuló 4g a lo largo del invierno. Esto nos hace sospechar que muy probablemente se tratase de un adulto que estaba pasando su segundo invierno. De hecho, en el año siguiente sólo fue capturado en los muestreos de primavera, pudiendo haber muerto después... y confirmando la idea de que realmente se trataba de un adulto. De ser así sería el único individuo que hemos registrado que sobreviva a lo largo de dos inviernos.

	Hembras (N=6)	Machos (N=5)	U test	p
Peso en otoño (g)	33.3 ± 5.4	38.2 ± 6.8	6.5	0.11
Peso en la primavera siguiente (g)	49.5 ± 4.1	61 ± 3.4	0	0.004
Tasa crecimiento invernol (g/mes)	1.9 ± 0.6	2.7 ± 0.5	3	0.06

Tabla 2-5.- Comparación del peso alcanzado por las crías en el primer otoño y en la primavera siguiente, y comparación de las tasas de crecimiento invernol entre hembras y machos mediante el test de la U de Mann-Whitney. p = valor de significación. Se muestran las medias ± desviación estándar.

En concordancia con el análisis anterior en el que hemos comparado los pesos medios en octubre para hembras y machos jóvenes, para estos 11 individuos encontramos que, efectivamente, los machos alcanzan algo más de peso que las hembras a lo largo de su primer verano de vida, pero la diferencia no es significativa (Tabla 2-5). (Nota aclarativa: los pesos medios de otoño para los jóvenes son más bajos que los del análisis anterior porque muchos de los 11 animales de este análisis son del muestreo de septiembre-04, en

vez de octubre, con lo que los jóvenes han tenido menos tiempo para crecer). Sin embargo, el peso con el que se recapturan estos mismos individuos en la primavera siguiente, sí que es mayor para los machos que para las hembras. Sería lógico esperar, por tanto, una tasa de crecimiento invernal superior en machos que en hembras, según reflejan los valores medios de las tasas de crecimiento. Sin embargo las diferencias no fueron significativas. Dado que uno de los machos (N19) no fue recuperado hasta agosto (en vez de en junio, como el resto de los animales) la tasa de crecimiento que presenta es menor (pues el intervalo de tiempo al que se refiere es mayor). Por eso consideramos eliminarlo también de este análisis y comprobamos que, entonces, la tasa de crecimiento sí es prácticamente significativa. La significación de los otros dos análisis no se pierde al descartar este individuo (Tabla 2-5).

De acuerdo, los animales jóvenes aumentan de peso hasta alcanzar el tamaño de adultos reproductores, pero una vez que son adultos, ¿mantienen el peso? ¿sigue aumentando? ¿acaso disminuye? Para dar respuesta a esta cuestión comparamos el peso de los animales en el periodo reproductor (primavera y verano), con el peso durante el periodo no reproductor subsiguiente (otoño), haciendo análisis independientes para los jóvenes y los adultos (Tabla 2-6).

Edad	Sexo	Periodo reproductor		U test	p	Nº individuos
		SI	NO			
Adultos	Hembras	51.7 ± 7.1	44.9 ± 4.2	27	0.002	Nsi=23; Nno=6
	Machos	60 ± 5	46.8 ± 5.2	5	<0.0001	Nsi=17; Nno=5
Jóvenes	Hembras	29.7 ± 7.1	36.3 ± 2.2	28	0.02	Nsi=11; Nno=16
	Machos	29.8 ± 8.9	36.6 ± 3.6	42	0.05	Nsi=21; Nno=11

Tabla 2-6.- Comparación entre sexos y clases de edad del peso de los individuos durante el periodo reproductor (primavera-verano) y el periodo no reproductor (otoño) en Peñalara, mediante el test de la U de Mann-Whitney. p = valor de significación Se muestran las medias ± desviación estándar. Nsi= nº indiv. durante el periodo reproductor. Nno= nº indiv. durante el periodo no reproductor.

Los análisis nos informan de que tanto las hembras adultas como los machos adultos disminuyen su peso significativamente al pasar de la estación reproductora (primavera y verano) a la no reproductora (otoño). Quizás como consecuencia del esfuerzo

reproductor, y a la vez indicativo de que su ciclo de vida está llegando a término para dejar paso a la siguiente generación. Por el contrario tanto las hembras como los machos jóvenes del año siguen incrementando su peso gradualmente incluso en otoño, con el objeto de alcanzar el máximo tamaño posible para pasar el invierno.

Según acabamos de poner de manifiesto, el peso de los animales adultos varía muy significativamente entre el periodo reproductor y no reproductor, lo que puede afectar considerablemente los resultados de análisis comparativos entre distintas poblaciones. Por esta razón, sugerimos que en estudios comparativos se tome como valor de referencia el peso de los individuos adultos durante el periodo reproductor. Dicho esto, el **peso medio** para las hembras adultas en Peñalara es de $51.7 \pm 7.1\text{g}$ (N=23), y para los machos es $60 \pm 5\text{g}$ (N=19), existiendo diferencias significativas en el peso entre ambos sexos (Mann-Whitney U Test = 66.5; $p < 0.0001$).

En Sierra Nevada:

Puesto que en Sierra Nevada apenas tenemos datos de jóvenes que son recapturados en muestreos sucesivos, no hemos podido hacer cálculos de las tasas de crecimiento, ni de las diferencias intersexuales en las mismas. Por tanto, de las tres cuestiones precedentes planteadas para Peñalara, solo hemos podido abordar la tercera cuestión en S.Nevada, referente a la diferencia de peso de los individuos de las distintas clases de edad entre el periodo reproductor y el no reproductor. A diferencia de en Peñalara, en esta localidad no se observan diferencias en el peso (Tabla 2-7). Si recordamos, en Peñalara, los adultos tenían un mayor peso durante la época reproductiva y luego lo perdían en otoño. En S.Nevada, sin embargo, el peso entre periodos se mantiene sin diferencias, y con unos valores relativamente cercanos a los de Peñalara durante el periodo no reproductor. Los jóvenes de S.Nevada, por su parte, no dan ese último “estirón” antes de la llegada del invierno, como hacen en Peñalara. Parece que en ambas clases de edad en S.Nevada, falta la “fase de engorde”, lo que hace que no se observen diferencias entre el periodo reproductor y el no reproductor.

Edad	Sexo	Periodo reproductor		U test // p	Nº individuos
		SI	NO		
Adultos	Hembras	43.4 ± 7.8	44.3 ± 6.8	n.s.	Nsi=18; Nno=3
	Machos	43.6 ± 6.1	39.9 ± 2.4	n.s.	Nsi=13; Nno=4
Jóvenes	Hembras		29.5		Nsi=0; Nno=1
	Machos	30.2 ± 2	32.4 ± 1.5	n.s.	Nsi=3; Nno=5

Tabla 2-7.- Comparación entre sexos y clases de edad del peso de los individuos durante el periodo reproductor (primavera-verano) y el periodo no reproductor (otoño) en S.Nevada, mediante el test de la U de Mann-Whitney. p = valor de significación (n.s. = $p < 0.05$). Se muestran las medias ± desviación estándar. Nsi= nº indiv. durante el periodo reproductor. Nno= nº indiv. durante el periodo no reproductor.

Reportamos a continuación los valores medios para el **peso** de las hembras adultas en Sierra Nevada: $43.4 \pm 7.8\text{g}$ ($N = 18$), y para los machos adultos: $43.6 \pm 6.1\text{g}$ ($N = 13$). A diferencia de en Peñalara, no existen diferencias significativas en el peso entre ambos sexos (Mann-Whitney U Test = 111.5; $p > 0.83$).

El test de la U de Mann-Whitney confirmó que el peso de los topillos nivales adultos difiere **entre localidades**, siendo significativamente superior en Peñalara que en Sierra Nevada para ambos sexos (Hembras: Peñalara = $51.7 \pm 7.1\text{g}$ ($N = 23$); S.Nevada = $43.4 \pm 7.8\text{g}$ ($N = 18$); U test= 81; $p = 0.004$; Machos: Peñalara = $60 \pm 5\text{g}$ ($N = 19$); S.Nevada = $43.6 \pm 6.1\text{g}$ ($N = 13$); U test = 3; $p < 0.0001$).

3.1.5. Estudio de la pérdida de peso debido al trampeo reiterado

En este apartado queremos reflejar cómo el número de recapturas consecutivas durante los 3 días de cada muestreo afecta al peso de los animales. Durante estos tres días (con sus tres noches), las trampas se revisaron en ocho ocasiones, siendo, por tanto siete el número de recapturas máximo para cada animal. Para ilustrar el efecto del trampeo sobre el peso de los animales utilizaremos únicamente datos de Peñalara, donde tanto el número de topillos, como de recapturas dentro del mismo periodo de muestreo, fue superior que en S.Nevada.

Los análisis que a continuación se muestran están realizados teniendo en cuenta sólo aquellos individuos que han sido recapturados al menos una vez dentro de un mismo periodo de muestreo. El número de individuos por sexos, periodo de trampeo y número de recapturas se recoge en la Tabla 2-8.

Sesión	Sexo	Nº de capturas dentro de un mismo periodo de muestreo						Total
		2	3	4	5	6	7	
Sept_04	Machos	1						1
Jun_05	Hembras	3	1	1				5
	Machos	2	2					4
Ago_05	Hembras	3	1	2	1			7
	Machos	1	1	1				3
Oct_05	Hembras	1	3		1	1		6
	Machos	2	2	1				5
Jun_06	Hembras	2	1		1	1	1	6
	Machos	3	2		1	2	1	9
Ago_06	Hembras	1	1	3				5
	Machos	3		1	2	3	1	10
Oct_06	Hembras	1	4	1		1	1	8
	Machos	1	2	1	3	3		10
Total		24	20	11	9	11	4	79

Tabla 2-8.- Número de capturas dentro de cada periodo de muestreo, y separado por sexos. Datos de la colonia de Peñalara.

Agrupando las siete sesiones de muestreo, el número medio de capturas por animal fue de casi cuatro (3.7 ± 1.6) y no presentó variación entre sexos (Mann-Whitney U Test = 703; $p = 0.59$). Dentro de cada periodo de muestreo tampoco se observan diferencias en el número de recapturas entre machos y hembras (Test exacto de Fisher de dos colas, $p > 0.05$ en todos los casos).

La tasa de pérdida de peso fue equivalente entre los distintos periodos de muestreo, tanto globalmente (Kruskal-Wallis test $H(g.l. = 6; N = 79) = 10.17$; $p = 0.12$) como para cada sexo (Hembras: Kruskal-Wallis test $H(g.l. = 5; N = 38) = 7.8$; $p = 0.16$; Machos: Kruskal-Wallis test $H(g.l. = 6; N = 41) = 5.3$; $p = 0.37$). Asimismo, el número de recapturas no varió significativamente entre las distintas sesiones (Chi-cuadrado test = 4.77, g.l. = 5; $p = 0.45$), con la excepción de en septiembre-04, donde tanto el número de capturas como de recapturas fue mucho menor que en el resto de las sesiones pues únicamente se utilizaron 15 trampas (vs. 60). El hecho de que no haya diferencias significativas en el número de

recapturas ni en la tasa de variación de peso entre las distintas sesiones de captura, nos permite aunar los siete periodos muestrales en uno sólo para los siguientes análisis.

El análisis mediante correlación de Pearson puso de manifiesto que el peso de los animales disminuye muy significativamente según aumenta el número de capturas en una sesión de trampeo dada (Coef. correlación $r = -0.52$, coef. determinación $R^2 = 0.27$, $p < 0.001$) (Figura 2-12).

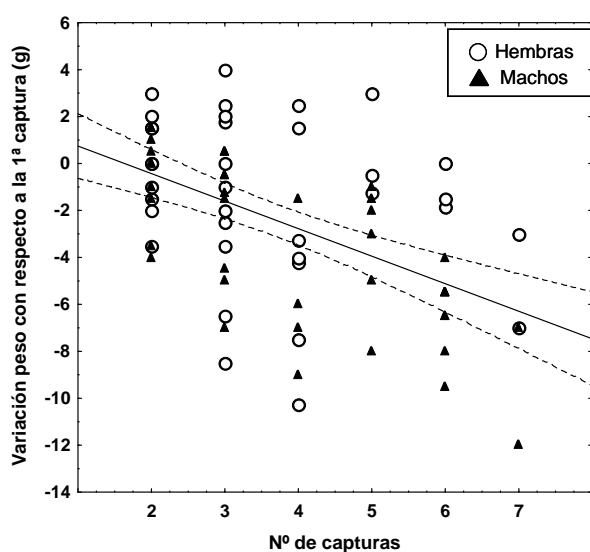


Figura 2-12.- Regresión de Pearson entre el peso y el número de recapturas. Se muestra la línea de regresión con intervalo de confianza del 95%. (Coef. correlación $r = -0.52$, coef. determinación $R^2 = 0.27$, $p < 0.001$).

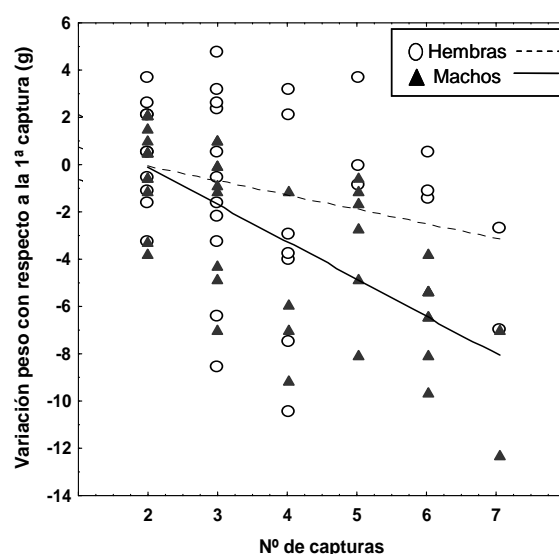


Figura 2-13.- Regresiones de Pearson entre el peso y el número de recapturas para hembras (Coef. correlación $r = -0.2$, coef. determinación $R^2 = 0.06$, $p = 0.1$, n.s.) y machos (Coef. correlación $r = -0.7$, coef. determinación $R^2 = 0.5$, $p < 0.001$).

No obstante, la intensidad de esta relación es diferente según el sexo, como bien ilustran las pendientes de las líneas de regresión de la Figura 2-13. En los machos la relación es muy fuerte, y sólo el número de recapturas llega a explicar el 50% de la variación en el peso (Coef. correlación $r = -0.7$, coef. determinación $R^2 = 0.5$, $p < 0.001$); mientras que en las hembras, aunque el peso sigue disminuyendo según aumenta el número de capturas, la relación deja de ser significativa (Coef. correlación $r = -0.2$, coef. determinación $R^2 = 0.06$, $p = 0.1$, n.s.).

En general, observamos que existe una relación directa entre la pérdida de peso y el número de recapturas (c.f. Figura 2-12). Cada vez que un animal cae en una trampa tiende a perder peso, a pesar de que ésta esté provista con alimento (pan con aceite, pipas...), un aporte de agua para evitar la deshidratación (trozo de manzana) y algodón como aislamiento térmico. Los pocos casos en los que observamos un aumento de peso de los animales, muy probablemente se daban a que los topillos recién acaban de comerse la manzana (alimento que por su alto contenido en agua tiene una densidad más elevada que el pan o las pipas) poco antes de ser liberados.

Se sabe que el trampeo en vivo de micromamíferos provoca un aumento del estrés fisiológico que se manifiesta en valores elevados de corticosterona, de glucosa en sangre y de hematocrito. Sin embargo, parece que el tiempo de permanencia dentro de la trampa no tiene mayores efectos sobre estos parámetros (Fletcher y Boonstra 2006). Esta situación de estrés puede provocar aumento de la orina, deshidratación, mayor tasa de defecación, pérdida de apetito, etc... que conllevan en todos los casos a la reducción de peso del animal. Además, en las ocasiones en las que los animales orinan sobre el algodón, este se queda húmedo y mojado, con lo que además del estrés por la confinación, los topillos pueden sufrir estrés térmico, igualmente derivando en pérdida de energía y de peso.

Estas observaciones ponen de manifiesto, por un lado: la importancia de revisar las trampas a menudo para minimizar el tiempo que los animales pasan encerrados en las mismas y que puedan volver a sus actividades normales y recuperar su condición física (y comportamental) normal. Un mínimo de 3 ó 4 revisiones cada 24 horas es aconsejable. Y por otro lado, que la duración de las sesiones primarias de captura (i.e. número de ocasiones secundarias) no debe ser muy elevado. Consideramos que tres noches es adecuado para esta especie. Un número mayor de noches de muestreo podría haber tenido un efecto perjudicial sobre algunos de los individuos que se hubiesen debilitado hasta el punto de no poder recuperarse.

3.2. EVOLUCIÓN NUMÉRICA DE LA POBLACIÓN A LO LARGO DEL AÑO

3.2.1. Número de capturas: evolución e interacción con otras especies

En Peñalara:

A lo largo de los siete periodos de muestreo en Peñalara se han capturado 64 individuos de topillo nival, que entre las capturas y las recapturas, han sumado un total 323 eventos de captura. El número de individuos capturados y recapturados en cada periodo de muestreo, así como el número de muestreos en los que un determinado animal es capturado se puede ver en el calendario de capturas (Petrusewicz y Andrzejewski 1962) (Tabla 2-9). El número de neverones distintos capturados en cada sesión osciló entre siete y 23 (con una media de 15.4 ± 5.7), correspondiendo la menor abundancia al muestreo efectuado en septiembre-04 en el que sólo se emplearon 15 trampas en vez de 60.

Durante los muestreos, además de topillos nivales también han caído en las trampas las siguientes especies:

- Ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*).
- Comadreja (*Mustela nivalis*), un individuo en agosto de 2005.
- Musaraña ibérica (*Sorex granarius*), dos individuos en agosto de 2006.
- Lirón careto (*Eliomys quercinus*), dos individuos, uno adulto en agosto de 2006 y uno juvenil en octubre de 2006. Como curiosidad mencionar que este último animal era un individuo albino.

Los ratones de campo empezaron a caer en las trampas a partir de la tercera sesión de captura (agosto 2005). En total se han capturado 25 *A.sylvaticus*, de los cuales solo 15 fueron recapturados en más de una ocasión, y de todos, solo un macho ha sido recapturado en dos periodos de trapeo distintos (agosto y octubre de 2006). El rango de capturas para los ratones es de dos a ocho individuos, con una media de 5 ± 2.1 . Según ilustra la Figura 2-14 las fluctuaciones numéricas de los ratones y los topillos siguen el mismo patrón, sin observarse interacciones en la abundancia relativa entre ambas especies.

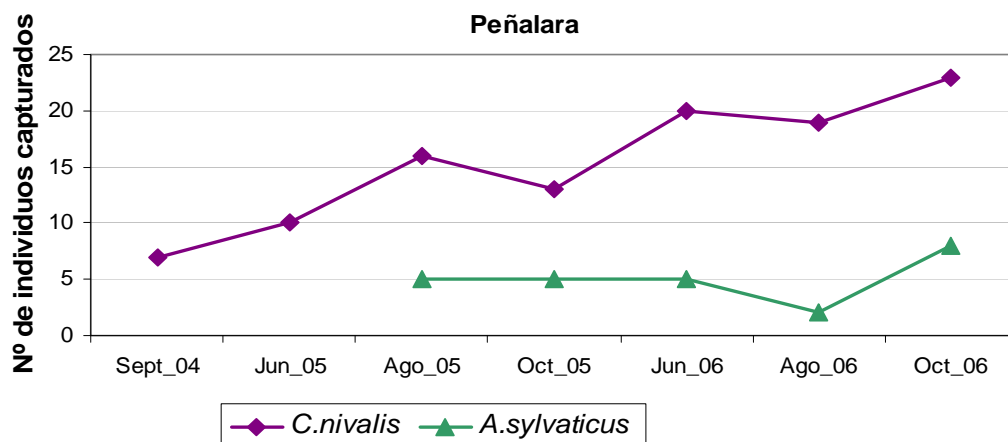


Figura 2-14.- Evolución del número de individuos de *C.nivalis* y *A.sylvaticus* capturados en cada sesión de muestreo en la colonia de Peñalara.

En Sierra Nevada:

En las nueve sesiones de muestreo que se efectuaron en la colonia de Sierra Nevada se capturaron 36 topillos nivales, cuyas recapturas alcanzaron un total de 120 eventos. El desglose de estas capturas y recapturas se detalla en el calendario de capturas (Petrusewicz y Andrzejewski 1962) de la Tabla 2-10. Nos vemos obligados a mencionar en este punto varias bajas accidentales, que desconocemos en qué medida han podido afectar la dinámica poblacional en esta colonia. Así, el individuo N6, capturado en mayo de 2004, fue encontrado muerto en la trampa en una de las revisiones de esa misma sesión. Presumiblemente se murió de frío, pues, aunque las temperaturas nocturnas no fueron muy bajas, el animal estaba completamente empapado en su propia orina cuando lo encontramos. Además de este individuo, en los muestreos de agosto de 2005, nos encontramos, como ya se ha comentado más arriba, tres topillos nivales devorados estando dentro de las trampas de rejilla. Desconocemos de qué individuos se trataba, o de si eran nuevas capturas, o ya habían sido recapturados, pues lo único que quedaba en la trampa era la cabeza de los mismos (Figura 2-3).

En la colonia de Sierra Nevada, además de topillos nivales se capturaron ratones de campo y lirones. A partir de agosto de 2004 el número de topillos capturados inicia un brusco descenso y pasa de 11, a siete en noviembre de 2004, y a tres o cuatro individuos en el resto de los muestreos, lo que hace una media de 4 ± 2.7 . Los ratones, por el contrario, muestran una tendencia opuesta, aumentando el número de individuos que se capturan a partir de noviembre de 2004 (rango: 0 - 7; media 3.5 ± 2.1). En cierto modo, los lirones siguen una tendencia decreciente parecida a la de los topillos nivales, con un máximo de cuatro individuos en el primer muestreo (rango: 0 - 4; media 2.4 ± 1.1) (Figura 2-15). La supervivencia entre sesiones y el turn-over de los topillos nivales puede verse con detalle en el calendario de capturas (Tabla 2-10). Entre los ratones, cuatro individuos fueron capturados en dos sesiones consecutivas, y entre los lirones, sólo uno.

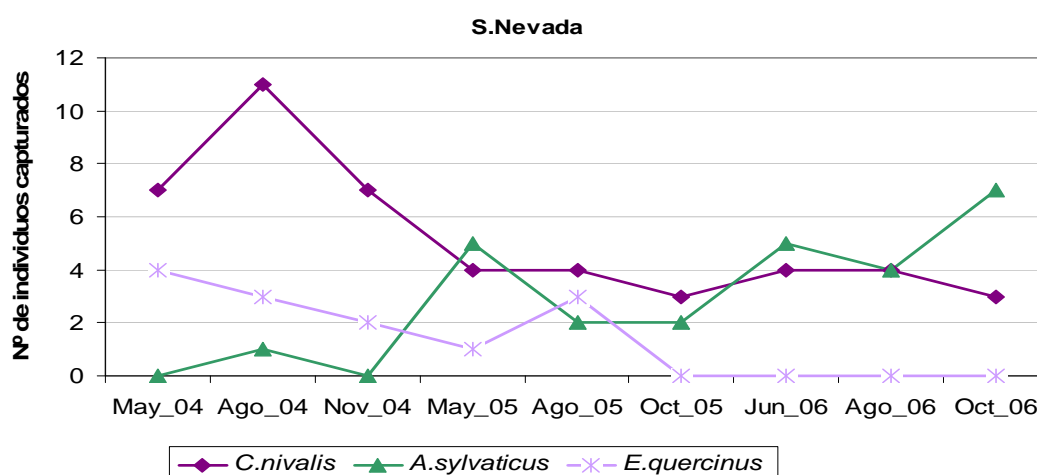


Figura 2-15.- Evolución del número de individuos de *C.nivalis*, *A.sylvaticus* y *E.quercinus* capturados en cada sesión de muestreo en la colonia de Sierra Nevada.

La **comparación** gráfica del número de capturas de neverones en las dos colonias de estudio nos muestra cuán opuestas son las tendencias demográficas (Figura 2-16). Recuerdese que el esfuerzo de muestreo fue constante entre colonias. En Peñalara se observa un aumento significativo del número de animales capturados según progresan los muestreos, tanto si incluimos el primer muestreo de otoño-04 en el que únicamente usamos 15 trampas y por tanto el número de animales fue menor, como si no lo incluimos

(Regresión de Pearson; Coef. correlación $r = 0.9$, coef. determinación $R^2 = 0.8$, $p < 0.05$). Por el contrario en S.Nevada se observa una tendencia negativa en el número de animales capturados en los sucesivos muestreos (Regresión de Pearson; Coef. correlación $r = -0.7$, coef. determinación $R^2 = 0.6$, $p < 0.05$). Aunque significativas y opuestas, las tendencias de la abundancia entre esas dos localidades nos son proporcionales (Coef. correlación $r = -0.6$, coef. determinación $R^2 = 0.4$, $p > 0.05$).

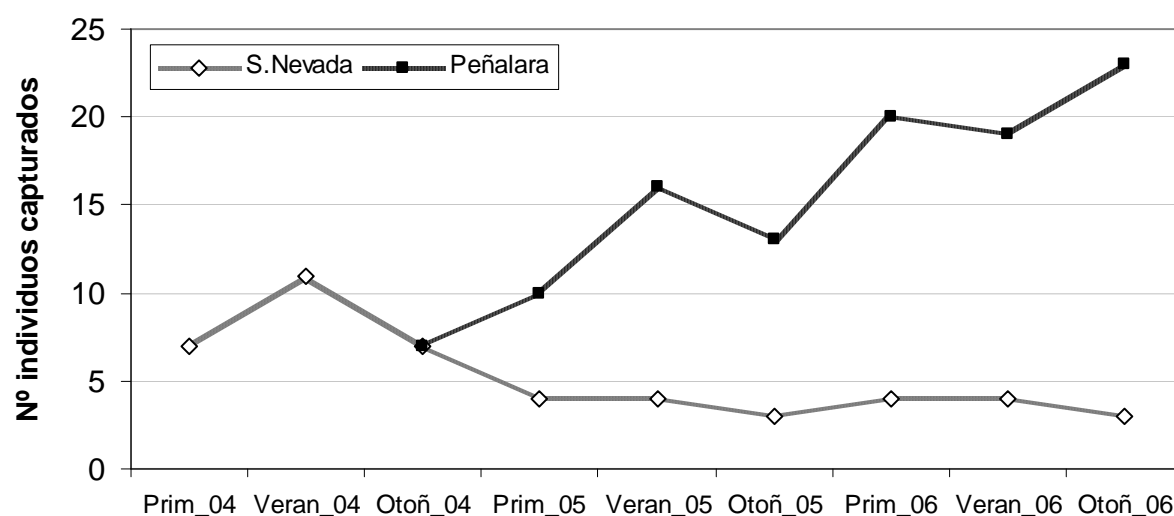


Figura 2-16.- Evolución del número de individuos de *C.nivalis* capturados en cada sesión de muestreo en la colonia de Sierra Nevada y en la de Peñalara.

ID	Sexo	Sept_04	Jun_05	Ago_05	Oct_05	Jun_06	Ago_06	Oct_06	Total
N1	macho	1		1					2
N2	macho	2							2
N3	hembra	1							1
N4	macho	1	2						3
N5	hembra	1	4	4	6				15
N6	hembra	1	1						2
N7	macho	1							1
N8	hembra		2						2
N9	macho		3						3
N10	hembra		2						2
N11	macho		3	3					6
N12	hembra		3	3					6
N13	hembra		2						2
N14	macho		2	4					6
N15	hembra			2	3	1			6
N16	hembra			4					4
N17	hembra			2	3				5
N18	hembra			5					5
N19	macho			1			1		2
N20	macho			1					1
N21	hembra			1					1
N22	macho			1					1
N23	macho			2					2
N24	hembra			2					2
N25	hembra			1					1
N26	macho				4	2		5	11
N27	hembra				3	6	4		13
N28	hembra				5	5	4	7	21
N29	macho				3	10	6		19
N30	hembra				2				2
N31	macho				3				3
N32	macho				2				2
N33	macho				2	3			5
N34	hembra				1	3	4		8
N35	macho				1				1
N36	macho					6	7		13
N37	hembra					2			2
N38	macho					5	2	6	13
N39	macho					6	6	4	16
N40	macho					2	5	6	13
N41	macho					1	2		3
N42	macho					2	5	6	13
N43	hembra					8		1	9
N44	macho					1	6	5	12
N45	macho					3	4		7
N46	macho					1			1
N47	hembra					1	1		2
N48	hembra						2	2	4
N49	hembra						3	3	6
N50	macho						2	5	7
N51	hembra						1		1
N52	macho						1		1
N53	hembra							4	4
N54	hembra							3	3
N55	hembra							3	3
N56	macho							3	3
N57	hembra							3	3
N58	macho							2	2
N59	hembra							1	1
N60	hembra							1	1
N61	macho							1	1
N62	hembra							6	6
N63	macho							3	3
N64	hembra					2			2
Total Indiv por sesión		7	10	16	13	20	19	23	108
Total machos por sesión		4	4	7	6	12	12	11	56
Total hembras por sesión		3	6	9	7	8	7	12	52
Capturados por 1ª vez (ie. Nuevos)		7	7	11	10	13	5	11	64
Sobreviven desde t-1 a t			3	4	3	7	13	9	39
Total eventos de captura		8	24	37	38	70	66	80	323

Tabla 2-9.- Calendario de capturas de la colonia de Peñalara.

ID	Sexo	May_04	Ago_04	Nov_04	May_05	Ago_05	Oct_05	Jun_06	Ago_06	Oct_06	Total
N1	hembra	1	1								2
N2	hembra	1	1								2
N3	macho	1									1
N4	macho	4									4
N5	hembra	1									1
N6	hembra	1									1
N7	hembra		3								3
N8	hembra		5								5
N9	macho	1	1								2
N10	macho		6								6
N11	hembra		1								1
N12	macho		2								2
N13	macho		1								1
N14	macho		4								4
N15	hembra		3								3
N16	hembra			3	3						6
N17	hembra			1	3						4
N18	macho			4							4
N19	macho			4							4
N20	macho			5							5
N21	macho			2							2
N22	macho			2							2
N23	macho				2						2
N24	hembra				1						1
N25	macho					2	4				6
N26	macho					1	5				6
N27	hembra					1					1
N28	macho					1					1
N29	macho						2				2
N30	macho							5			5
N31	hembra							6	7		13
N32	macho							1			1
N33	hembra							1	4	6	11
N34	macho								3		3
N35	macho								1	1	2
N36	hembra									1	1
Total Indiv por sesión		7	11	7	4	4	3	4	4	3	47
Total machos por sesión		3	5	5	1	3	3	2	2	1	25
Total hembras por sesión		4	6	2	3	1	0	2	2	2	22
Capturados por 1ª vez (ie. Nuevos)		7	8	7	2	4	1	4	2	1	36
Sobreviven desde t-1 a t			3	0	2	0	2	0	2	2	11
Total eventos de captura		10	28	21	9	5	11	13	15	8	120

Tabla 2-10.- Calendario de capturas de la colonia de Sierra Nevada.

3.2.2. Proporción de sexos

En Peñalara:

De los 64 topillos nivales capturados en Peñalara entre 2005 y 2006, 32 fueron machos, y 32 hembras, y sus proporciones variaron según se ilustra en la Figura 2-17. La proporción de sexos no difirió de 1:1 en ninguno de los periodos de muestreo (Test exacto de Fisher de dos colas; $p > 0.05$, en todos los casos).

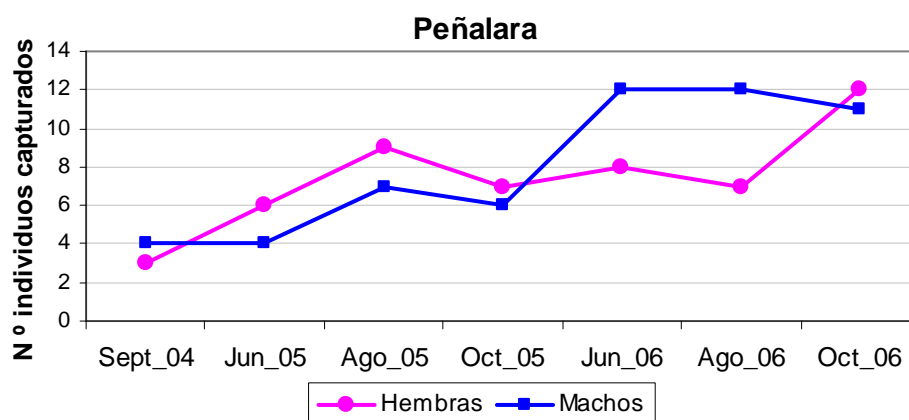


Figura 2-17.- Número de hembras y machos capturados en la colonia de Peñalara en cada muestreo.

En Sierra Nevada:

En la colonia de S.Nevada se registró un total de 15 hembras y 21 machos, cuyas proporciones numéricas oscilaron según se muestra en la Figura 2-18, sin alejarse significativamente de la proporción 1:1 en ningún periodo de muestreo (Test exacto de Fisher de dos colas; $p > 0.05$, en todos los casos).

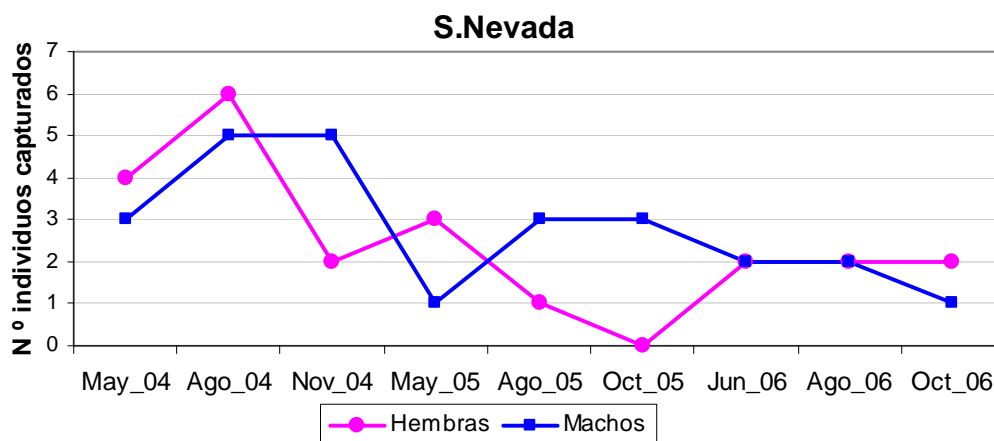


Figura 2-18.- Número de hembras y machos capturados en la colonia de S.Nevada en cada muestreo.

3.2.3. Permanencia individual en el área de estudio y longevidad

En Peñalara:

A lo largo de los muestreos en Peñalara más de la mitad de los individuos (54%) solo fueron capturados en una única sesión o periodo de trampeo, cuyo reparto por muestreos se presenta en la Figura 2-19. El elevado número de individuos capturados una única vez en octubre-06 está sesgado, como consecuencia de que al no haberse realizado el seguimiento más allá de esa fecha, ninguno de los 11 topillos capturados por primera vez en octubre-06 ha tenido oportunidad de ser recapturado en otro periodo de muestreo. Dada la información de la que disponemos por el momento, en el resto de los casos desconocemos si los topillos sólo han sido capturados en un único periodo de muestreo porque han muerto después, porque han emigrado o porque simplemente no han sido capturados. Estos aspectos serán abordados con más detalle en el siguiente capítulo.

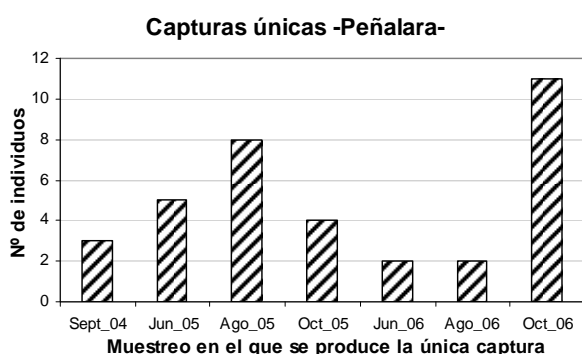


Figura 2-19.- Número de individuos capturados en un único periodo, y periodo en el que se produjo la captura.

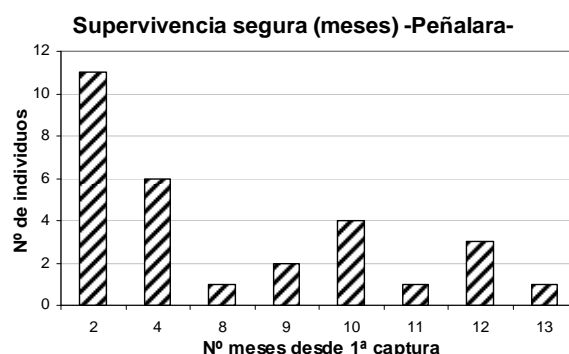


Figura 2-20.- Número de individuos que ha sido capturado pasados X meses desde su 1ª captura.

En cuanto al resto de los individuos que han sido capturados en más de una ocasión (N=29), casi el 60% fue recapturado pasados dos o cuatro meses desde la primera captura, dentro de la misma temporada de campo (que abarca desde primavera a otoño), y sólo tenemos registro de 12 individuos que han superado un invierno, siendo recapturados en la siguiente temporada de campo (Figura 2-20). De estos 12 individuos (cuatro del primer invierno, 2hembras:2machos, y ocho del segundo invierno 4hembras:4machos) todos eran subadultos, menos uno que era un adulto, el N4, y cuyo caso ya se ha comentado anteriormente.

Sólo cuatro individuos (2hembras:2machos) han sido recapturados pasado un año desde su primera captura. Uno de ellos pasados 13 meses. Este individuo (el N5) fue capturado por primera vez el 13 de septiembre-04 con 28g. Un cálculo estimativo de la edad de este individuo utilizando las mismas tasa de crecimiento que las utilizadas en el apartado 3.1.1. de este capítulo, nos indica que el animal tenía entre 22 y 30 días, lo que sitúa su nacimiento en torno a la tercera semana de julio-04. La última captura de este animal fue el 27 de octubre-05, con lo que la supervivencia máxima que registramos es de 15 meses completos, para esta hembra.

En Sierra Nevada:

El 72% de los neverones cogidos en la colonia de Sierra Nevada solo fue capturado durante una sesión o periodo de trampeo, y después nunca más fue recapturado. El desglose por muestreos del número de “capturas únicas” se puede ver en la Figura 2-21, donde destaca el muestreo de agosto-04 donde, recordemos, hubo tres bajas de topillos devorados dentro de las trampas. El resto de los muestreos contienen entre uno y cinco topillos que nunca más volvieron a capturarse. Diez de los 36 individuos capturados en S.Nevada fueron recapturados al menos una vez. La mayoría de estas recapturas se dieron pasados los dos meses desde la primera captura, y sólo dos individuos fueron recapturados pasados seis meses desde su primera captura (Figura 2-22). Estos individuos constituyen los dos únicos registros de neverones recapturados después de pasar un invierno en S.Nevada. Se trata de dos hembras, una adulta y otra joven, en el momento de su última captura pre-invernal.

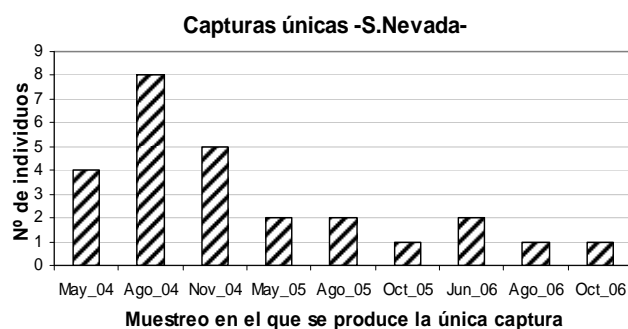


Figura 2-21.- Número de individuos capturados en un único periodo, y periodo en el que se produjo la captura.

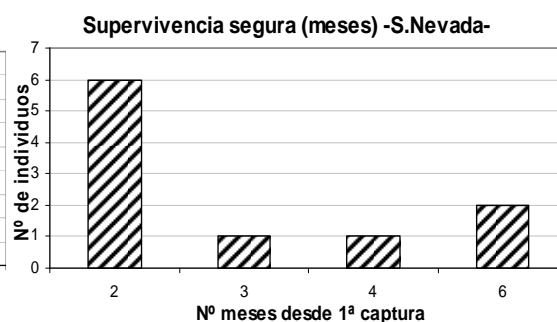


Figura 2-22.- Número de individuos que ha sido capturado pasados X meses desde su 1ª captura.

4. DISCUSIÓN

La mayor parte de la información obtenida ya se ha ido discutiendo paralelamente en el apartado de resultados, y no será aquí incluida nuevamente. Aquí trataremos de forma global e integrada los aspectos fundamentales que constituyen la historia vital y reproductiva del topillo nival.

Dividimos este apartado en dos secciones. En la primera integramos toda la información sobre el funcionamiento y estructura de la población obtenidos para reconstruir el ciclo vital del topillo nival. Nos centraremos fundamentalmente en los datos de Peñalara, por ser más completos que los de S.Nevada, y los compararemos con la información precedente sobre la especie, que procede fundamentalmente de observaciones en su área de distribución centroeuropea. En la segunda sección estudiaremos la información obtenida para Peñalara y S.Nevada desde un punto de vista comparativo.

4.1. RECONSTRUCCIÓN DEL CICLO VITAL DEL TOPILLO NIVAL EN PEÑALARA

El inicio y la duración del **periodo reproductor** en la mayoría de las especies de microtininos está determinado por factores medioambientales, siendo el fotoperiodo, la temperatura y la disponibilidad de alimento los agentes sincronizadores fundamentales de la reproducción en las poblaciones de topillos (Keller 1985; Kriegsfels *et al.* 2000). El periodo reproductor del topillo nival está restringido a la primavera y al verano, coincidiendo con la ausencia de nieve y la estación de crecimiento vegetativo en la alta montaña. Por tanto es de esperar que la duración del periodo reproductor fluctúe en función de las condiciones climáticas, y muy notablemente con la altitud. Así, Le Louran y Janeau (1975) observaron que en los Altos Alpes franceses (Les Hautes-Alpes) el periodo reproductor se extendía desde principios de mayo a final de septiembre (cuatro meses) en colonias situadas a 1500m de altitud, se acortaba un mes (de mayo a agosto) a los 2100m, y se retrasaba un mes más (de junio a agosto), entre los 2200 y 2600m de altitud. Presumiblemente debido a la menor latitud de las localidades en las que se centra este estudio, hemos observado que tanto en Peñalara como en Sierra Nevada la duración del

periodo reproductivo es relativamente mayor que en los Altos Alpes, pero que mantienen el mismo patrón de acortamiento asociado a la altitud. Así, en la colonia de Peñalara, situada a 2020m s.n.m. la reproducción tiene lugar desde mitad de abril hasta mitad de septiembre (cinco meses), mientras que en la colonia de S.Nevada, a 2580-2600m de altitud, la reproducción se retrasa, al menos una semana y se acorta otras dos o tres, reduciéndose por tanto a cuatro meses, a partir de la tercera semana de abril.

A lo largo del periodo de reproducción en Peñalara hemos capturado juveniles en la primera semana de junio de 2006 y en la primera semana de agosto de ambos años (2005 y 2006), lo que indica que al menos se producen dos camadas al año. En los Altos Alpes franceses y en los Alpes Orientales italianos también se han observado únicamente dos camadas al año (Le Louran y Janeau 1975; Locatelli y Paolucci 1999), mientras que en Armenia se han registrado excepcionalmente tres partos en el mismo periodo de cría (Martirosyan 1964).

Las crías del año van acumulando peso a lo largo del verano, observándose un crecimiento (o tasa de engorde) significativamente mayor desde su primera captura hasta la siguiente captura dos meses después, que en el periodo desde el segundo al cuarto mes desde su captura inicial. En numerosas especies de microtininos se distinguen también dos fases diferenciales en la curva de crecimiento de los jóvenes. Una primera etapa durante la lactancia (día 0-15) y otra durante la fase temprana del destete (día 16-21). En unas especies la primera fase presenta un crecimiento más rápido que en otras, mientras que en otras especies ocurre al revés (Nadeau 1985). El diseño de muestreo y el trabajo en el campo de este estudio no nos han permitido determinar las tasas de crecimiento con tanta precisión, sin embargo sí que podemos afirmar que en mayor o menor grado, el crecimiento, aunque se ralentiza, continúa hasta el cuarto mes de vida, de modo que tanto hembras como machos llegan a alcanzar un peso entorno a los 40g en los muestreos de otoño. En la primavera siguiente, estos individuos son recapturados con el peso propio de adultos reproductores. De este hecho se derivan las siguientes observaciones:

- 1) el **crecimiento** no solo se prolonga hasta el mes cuarto (desde primavera hasta otoño), sino que continúa en cierta medida, bien a lo largo del invierno, bien en la

primavera muy temprana antes de los muestreos primaverales. Las observaciones de Le Louran y Janeau (1975) en los Altos Alpes parecen apuntar más hacia esta segunda alternativa. Estos autores observaron que en los primeros tres meses de vida los topillos alcanzaban los 30g de peso, y que posteriormente el crecimiento se detenía durante el invierno para reiniciarse en el marzo siguiente.

- 2) en Peñalara, los individuos de ambos sexos adquieren la **madurez sexual** en la primavera siguiente al año de su nacimiento. Esta observación no está del todo en concordancia con la de otros autores, que indican que algunas hembras nacidas al comienzo de la estación de cría se reproducen en agosto del mismo año; mientras que los machos sólo se reproducen al año siguiente de haber nacido (Le Louran y Janeau 1975; Bocchini y Nieder 1994; Janeau y Aulagnier 1997). Los juveniles de topillo nival, especialmente las hembras, residen en el área donde han nacido, es decir, en el territorio materno, hasta que alcanzan la madurez sexual al año siguiente (Le Louran y Janeau 1975; Bocchini y Nieder 1994; Luque-Larena *et al.* 2002b). Sin embargo, según Bocchini y Nieder (1994), si la hembra adulta desaparece de su territorio durante la estación de cría, las hembras nacidas temprano en el año pueden reproducirse antes de que acabe el verano. Para ello, además, el periodo de reproducción tiene que ser relativamente amplio. En este sentido, Le Louran y Janeau (1975) observaron este fenómeno por el que algunas hembras se reprodujeron en el mismo año de su nacimiento en una colonia situada a 1500m s.n.m., pero en ningún caso en la colonia de seguimiento a 2100m, donde el periodo de cría es sustancialmente más corto. Este tipo de regulación densodependiente del crecimiento poblacional se ha verificado en varias especies de micromamíferos (Juskaitis 2003), sin embargo en el caso particular del topillo nival no se ha determinado qué es lo que hace que en algunas colonias algunas hembras jóvenes se reproduzcan en la misma temporada de cría de su nacimiento.

En síntesis, al comienzo de la época reproductiva, en la primavera, la población está constituida, como acabamos de exponer, por los jóvenes nacidos el año pasado que tras el invierno son los adultos reproductores de la nueva temporada de cría, cerrando así el ciclo

reproductivo. Es decir, la **estructura de edad** se invierte prácticamente a lo largo del periodo reproductor, estando la población compuesta por adultos en primavera cuyo número va disminuyendo mientras que el de jóvenes aumenta hasta prácticamente reemplazar a aquellos a finales de otoño (c.f. Figura 2-7).

En términos generales, la **esperanza de vida** de los topillos nivales es de poco más de un año y ningún individuo sobrevive el segundo invierno ni participa en dos estaciones reproductivas (Le Louran y Janeau 1975; Moreno y Balbontín 1998; Locatelli y Paolucci 1999). No obstante existen registros de una hembra (Bocchini y Nieder 1994) y un macho (Locatelli y Paolucci 1999), con una longevidad superior a los 20 meses. Según nuestras observaciones los topillos nivales en Peñalara viven efectivamente entre 11 y 15-16 meses para completar su ciclo vital, y aunque no hemos constatado ningún individuo que críe en más de una temporada, sí que tenemos evidencias de que un macho (el individuo N4) haya sobrevivido dos inviernos, lo que constituiría un primer referente en la literatura. Este macho no volvió a ser capturado más allá de su segunda primavera como adulto, lo que concuerda con la esperanza de vida máxima estimada para los machos en no más de 24 meses (Janeau y Aulagnier 1997).

En cuanto a la **proporción de sexos**, hemos encontrado que en Peñalara el número de hembras domina sobre el de machos en los primeros muestreos efectuados, mientras que en los últimos es el número de machos el que domina sobre el de las hembras. No obstante, estas diferencias no son significativas, estando el número de hembras y machos equilibrado en cada periodo de muestreo (c.f. Figura 2-17). En los topillos nivales la proporción de sexos parece que está equilibrada al nacer (Le Louran y Janeau 1975), pero luego varios trabajos encuentran un desequilibrio entre los sexos, unas veces sesgado a favor de las hembras y otras a favor de los machos (Krapp 1982; Locatelli y Paolucci 1999). Esta inconsistencia en la proporción de los sexos encontrada en las poblaciones de topillo nival parece reflejar un momento puntual (como una instantánea fotográfica) de la población de estudio, y no una característica demográfica que favorezca un mayor número de hembras (o de machos) como parte de la estrategia reproductiva o vital de la especie.

En líneas generales, los topillos nivales de Peñalara siguen la misma estrategia vital que sus conespecíficos de los Alpes y Apeninos. No obstante sí encontramos **diferencias en el peso corporal**, alcanzando los topillos de Peñalara unos 10g más que los de los Apeninos (Bocchini y Nieder 1994), y cerca de 20g más que los de los Altos Alpes (Le Louran y Janeau 1975). Y es que, aunque dentro del rango de peso descrito para la especie (de 40 a 62g) (Janeau y Aulagnier 1997), el peso de los neverones de la colonia de Peñalara se sitúa en el extremo superior (c.f. Tabla 2-11). Este mayor tamaño bien puede ser el reflejo de una de las características de la subespecie *Chionomys nivalis abulensis*, propia del Sistema Central (Morales Agacino 1936; Niethammer 1964), y no necesariamente indicativo de una mejor condición física. No obstante, el peso de los neverones registrado en nuestra colonia de Peñalara es ciertamente superior al peso de los mismos en una colonia vecina del Puerto de Navacerrada (ca. 6-7 Km de la colonia de Peñalara) medidos también durante el periodo de reproducción (Luque-Larena *et al.* 2003).

PESO DE LOS INDIVIDUOS					
	Hembras		Machos		Referencia
	media ± desv.	N	media ± desv.	N	
PEÑALARA	51.7 ± 7.1	23	60 ± 5	19	Datos propios
Rila Mt. Bulgaria	50.5 ± 12	13	54.8 ± 11.7	11	Metcheva et al. 2008
Puerto Navacerrada	48.6 ± 2.1	9	53 ± 1.9	8	Luque-Larena et al. 2003
Apeninos	44.8 ± 8.2	87	50.3 ± 8.3	91	Bocchini y Nieder 1994
S.NEVADA	43.4 ± 7.8	18	43.6 ± 6.1	13	Datos propios
Altos Alpes	34.8 ±	6	39 ±	5	Le Louran y Janeau 1975

Tabla 2-11.- Comparativa del peso (media ± desviación estándar) registrado para cada sexo en distintas localidades de topillo nival. Los pesos para Peñalara, S.Nevada y Puerto de Navacerrada corresponden al periodo reproductor, para las otras localidades se desconoce.

Esta diferencia no desdeñable (c.f. Tabla 2-11) nos podría estar indicando, incluso dentro de una pequeña escala geográfica, unas condiciones ambientales locales más favorables en el entorno de la colonia de Peñalara. En cualquier caso, esta diferencia en el peso corporal de nuestra población nos obligó a determinar nuevos puntos de corte para la distinción entre clases de edad. Hasta la fecha, los criterios de distinción de clases de edad en topillos nivales estaban basados en observaciones de poblaciones de los Altos Alpes, de forma que se consideraban tres clases: juveniles (<25g), subadultos (25-33g, y sexualmente

inactivos) y adultos ($>33\text{g}$) (Le Louran y Janeau 1975; Janeau 1976). Los nuevos criterios de edad que hemos ajustado específicamente para la población de Peñalara siguen los siguientes criterios: juveniles ($<30\text{g}$), subadultos ($30\text{-}40\text{g}$ en las hembras; $40\text{-}50\text{g}$ en los machos), adultos ($>40\text{g}$ en las hembras; $> 50\text{g}$ en los machos).

Los **puntos de corte entre clases de edad** que hemos establecido parecen responder bastante bien a la realidad, pues como se ha indicado anteriormente apenas hay excepciones. En el caso de las hembras encontramos únicamente una excepción de 33 hembras analizadas (Figura 2-5izquierda), y que corresponde a la hembra N49, que capturamos en estado lactante con tan solo 39g . Realmente se trata de una diferencia de peso insignificante entre el peso observado y el determinado como punto de corte para las hembras adultas -reproductoras- ($>40\text{g}$), y claramente responde a la existencia de variabilidad individual: a lo largo de todo el seguimiento esta hembra se ha caracterizado por presentar siempre un peso muy bajo. Entre los machos encontramos dos excepciones de 39 (Figura 2-5derecha). El macho N4, no presenta signos de reproducción con 53g . Podría deberse a que corresponde al muestreo de septiembre de 2004, que hemos considerado dentro del periodo reproductor porque capturamos una hembra preñada en esa fecha. Sin embargo, aunque la gestación continúe, es muy probable que la fase de apareamiento ya esté finalizada para septiembre, lo que explicaría que este macho adulto capturado en septiembre no presente testículos escrotados. Por tanto la única excepción real la tenemos en el individuo N26, un macho que ha llegado a alcanzar hasta los 60g de peso en junio de 2006 y nunca ha sido reproductor. Desconocemos las causas por las que este macho nunca se ha reproducido a pesar de su buena talla. Quizás algún tipo de análisis de bioquímica hormonal, biopsia o necropsia hubiese puesto de manifiesto alguna insuficiencia fisiológica o enfermedad por la cual no se ha reproducido.

4.2. COMPARACIÓN DE ALGUNOS RASGOS VITALES DE LOS NEVERONES DE PEÑALARA Y S.NEVADA

Del estudio comparado de las características poblacionales estudiadas en las colonias de topillo nival de Peñalara y Sierra Nevada destacan tres diferencias fundamentalmente:

1. el tamaño poblacional (relativo) de neverones en la colonia de S.Nevada es extremadamente bajo en comparación con la colonia de Peñalara.
2. en S.Nevada, no hay dimorfismo sexual en el peso, mientras que en Peñalara sí lo hay. Además en S.Nevada los animales alcanzan considerablemente menos peso corporal que en Peñalara; de media, las hembras pesan 15% menos, y los machos hasta 27% menos.
3. el “tiempo de permanencia” de los animales en el área de estudio de S.Nevada es menor que en Peñalara.

A continuación desarrollamos estos aspectos con más detalle:

1) Con respecto a la evolución del **tamaño poblacional** de la colonia de S.Nevada (c.f. Figura 2-15) destaca el descenso del número de individuos que se produce entre agosto-2004 y mayo-2005. En este intervalo de tiempo el número pasa de once a cuatro, para mantenerse entorno a este valor en el resto de los muestreos. Sin duda tenemos constancia que parte de esta disminución en el número de efectivos se debió al episodio de depredación dentro de las trampas que tuvo lugar en agosto-04 y que eliminó a tres topillos de la población. En base a los restos que los depredadores dejaron en las trampas (c.f. Figura 2-3) no podemos saber si estos tres individuos eran adultos, que ya se habían reproducido, y morirían en breve, o si eran jóvenes del año que aún no habían aportado descendencia a la colonia. Este último supuesto sería más grave pues desestructuraría en mayor medida la dinámica poblacional. Además de la pérdida de estos tres individuos es posible que alguna otra causa desconocida actuase sobre la población reduciendo aún más el tamaño poblacional. En cualquier caso el resultado es que entre agosto-2004 y mayo-2005 el número de individuos se redujo a menos de la mitad, y desde entonces el número

de individuos no mostró ningún signo de recuperación en los dos años siguientes, poniendo de manifiesto la baja capacidad reproductora y colonizadora de la especie, así como la baja tasa de renovación (turn-over rate) de la población.

En cuanto al episodio de **depredación**, consideramos que no hay que descartar a los lirones caretos (*Eliomys quercinus*) como posibles depredadores, aún cuando éstos no han sido nunca citados como depredadores de los topillos nivales. Entre los depredadores típicos de los neverones destacan: entre las aves, el búho real (*Bubo bubo*), la lechuza (*Tyto alba*), el cárabo (*Strix aluco*), la chova piquigualda (*Pyrrhocorax graculus*), los cernícalos (*Falco sp.*) e incluso el cuervo (*Corvus corax*). Entre los mamíferos, el zorro (*Vulpes vulpes*), la garduña (*Martes foina*), armiño (*Mustela erminea*) y la comadreja (*Mustela nivalis*). Entre los reptiles, las víboras (*Vipera sp.*) (Janeau y Aulagnier 1997). Aunque la lista de depredadores de los topillos nivales es muy extensa, parece ser que el impacto, y depredación efectiva es mínima, debido a la protección y refugio que el ambiente rocoso en el que viven y la cobertura de nieve les proporcionan (Le Louran y Janeau 1975; Krapp 1982; Janeau y Aulagnier 1997).

Según el *modus operandi* del depredador que devoró a los topillos estando dentro de las trampas, descartamos por completo a las aves y a las víboras. Entre los mamíferos presentes en S.Nevada y depredadores potenciales de los neverones se pueden citar, el zorro, la comadreja y la garduña. El zorro y la garduña tienen unas garras que no les permiten maniobrar a través de la luz de la malla metálica de la trampa (de tan sólo 1.2*1.2 cm), y presumiblemente la comadreja tampoco puede. No obstante, y dado cuán intensivamente las comadrejas pueden depredar sobre los neverones (Luque-Larena *et al.* 2002a), las mantuvimos como sospechosas y las sometimos a la siguiente prueba: comparamos el ancho de mordida y patrón del bocado de las comadrejas (utilizando un cráneo de la colección científica de la Estación Biológica de Doñana) con las perforaciones que el depredador dejó en el plástico transparente con el que envolvemos las trampas para impermeabilizarlas. Los patrones no coincidieron, por lo que definitivamente descartamos a las comadrejas como autoras.

El lirón careto por su parte, es uno de los roedores ibéricos más agresivos y voraces, muy bien dotado para la depredación y ataca con frecuencia a otros micromamíferos, reptiles e incluso aves de pequeño y mediano tamaño (Moreno y Balbontín 1998). Los lirones son además frecuentes en la zona de estudio de S.Nevada (c.f. Figura 2-14), y tendrían capacidad para maniobrar a través de la luz de la malla desde el exterior de la trampa. Sin embargo, no tenemos análisis de dieta de los lirones de la zona, ni conseguimos observarlos utilizando cebo y trampas cámara, con lo que nuestra sospecha de que los lirones careto depredan sobre los topillos nivales en S.Nevada necesita ser comprobada.

Además, en otra ocasión capturamos en una trampa un topillo nival sin las patas de atrás, pero no por una malformación, sino por amputación debida a depredación. Las heridas estaban bien cicatrizadas, y el topillo se desplazaba con bastante soltura apoyándose en las caderas... Un espectáculo bastante grimoso, pero que nos confirma que en la colonia de neverones de S.Nevada hay depredadores especializados y que no sólo actuaron oportunísticamente devorando a los animales en las trampas.

2) En relación al **peso corporal**, los animales alcanzan un peso significativamente inferior en S.Nevada que en Peñalara. Además, el dimorfismo sexual observado en Peñalara, con un peso superior para los machos y puesto de manifiesto en mayor o menor medida así mismo en otros estudios, (Le Louran y Janeau 1975; Innes y Millar 1994; Luque-Larena *et al.* 2004) también se pierde en S.Nevada. Por otro lado, en el apartado 3.1.4., en el que hemos comparado el peso entre sexos y edades durante el periodo de reproducción (primavera-verano) y pasado el mismo (otoño), observamos que no existen diferencias en el peso en ninguno de los grupos (sexo * edad) entre ambos periodos. En Peñalara, sin embargo, observamos que los adultos alcanzan su mayor peso durante la época reproductiva, y que en octubre, después del esfuerzo reproductivo y ya en su senectud, están más delgados. Los jóvenes, por el contrario, no afectados por la época de reproducción, siguen aumentando de peso gradualmente, con lo que es comprensible que en otoño pesen más que en verano. Estas diferencias no se observan en S.Nevada, por falta, en ambas clases de edad, de la fase en la que los animales presentan un mayor peso: época reproductiva para los adultos y época no reproductiva (octubre) para los juveniles.

Parece como sí, en S.Nevada, tanto jóvenes como adultos llegasen a alcanzar tan solo la talla mínima necesaria para el desarrollo de sus funciones reproductivas.

Según los requerimientos de hábitat del topillo nival, éste selecciona ambientes rocosos con una cobertura de herbáceas de tan sólo el 10-20% (Le Louran y Janeau 1975; Janeau 1980; Janeau y Aulagnier 1997; Irizar *et al.* 2002; Luque-Larena *et al.* 2002b), no obstante los desplazamientos a zonas próximas de alimentación en las inmediaciones de los canchales son frecuentes (Luque-Larena *et al.* 2002b). Aunque no hemos realizado estudios sistemáticos de disponibilidad de alimento, nuestra observación en el campo nos lleva a confirmar que efectivamente la cobertura herbácea en S.Nevada es menor del 20%, sin embargo, y a diferencia de en Peñalara, no existen parches de hierba fresca en el entorno del canchal. Además, en S.Nevada hay un elevado número de herbívoros (silvestres, y sobre todo domésticos) que también compiten por el escaso alimento vegetal. Esto nos lleva a pensar que bien la disponibilidad de alimento, o la calidad del mismo, pudiesen ser factores limitantes del crecimiento de los topillos nivales en S.Nevada.

No obstante, también pudiese ser que el menor peso de los animales de S.Nevada frente a los de Peñalara se deba en parte a un menor periodo vegetativo asociado con la mayor altitud, o simplemente a diferencias inter-subespecíficas, ya que la subespecie *Chionomys nivalis abulensis*, típica del Sistema Central, se caracteriza por un mayor tamaño (Morales Agacino 1936; Niethammer 1964). De hecho, si comparamos los pesos de los animales de S.Nevada con los de los Alpes (similar altitud y otra subespecie), por ejemplo, las diferencias en el peso no son tan acusadas (c.f. Tabla 2-11).

3) Por último, también es notable el menor “**tiempo de permanencia**” de los topillos nivales en la colonia de S.Nevada en comparación con los de Peñalara. Así, en S.Nevada el 72% de los topillos (*vs.* el 54% en Peñalara) fue capturado sólo en un único periodo de trampeo, no habiéndose recapturado en muestreos posteriores. Por otro lado, sólo tenemos dos registros de animales que han superado un invierno en S.Nevada y han sido recapturados en la primavera siguiente (*vs.* 12 en Peñalara), y ninguno de ellos ha sido recapturado al año de su primera captura (*vs.* 4 en Peñalara). Bien es cierto que no podemos distinguir entre mortalidad, emigración o “habilidad del animal” para eludir las

recapturas. Sin embargo, con el esfuerzo de muestreo empleado, la captura recurrente de individuos ya marcados fue muy frecuente y la incorporación de nuevos individuos casi excepcional, sobre todo en S.Nevada. Esas observaciones parecen sugerir que estamos capturando un porcentaje francamente alto de la población. Por otro lado, si se tratase de emigración, aparentemente también muy escasa, se esperaría una compensación con la llegada de inmigrantes (Janeau y Aulagnier 1997) que se hiciesen residentes en el área de estudio y que en consecuencia podrían ser recapturados en sucesivas ocasiones, bajando ese porcentaje del 72%, y esto tampoco ocurre. Estas circunstancias nos hacen pensar que este menor “tiempo de permanencia” de los topillos en la colonia de S.Nevada, realmente se corresponde con una menor supervivencia, al menos, en comparación con Peñalara.

Estos tres aspectos: menor abundancia relativa de la población, menor peso corporal y menor supervivencia son indicativos de que la colonia de S.Nevada no ofrece unas condiciones tan óptimas para los topillos nivales como las que se dan en Peñalara. El diseño de nuestro estudio no nos permite determinar las causas por las que S.Nevada es peor hábitat que Peñalara, pero nuestro conocimiento del medio y los resultados obtenidos en este capítulo, nos permiten apuntar a los siguientes aspectos como causas potenciales: menor disponibilidad de alimento (debido a menor abundancia de herbáceas y a un periodo vegetativo más corto), peor calidad del alimento, mayor número de competidores por el alimento (otros herbívoros) y por los sitios de refugio (ratones y lirones), mayor depredación... Además hay que tener en cuenta el gradiente latitudinal de pérdida de diversidad y abundancia poblacional de especies de roedores que se produce en la Península Ibérica, de modo que cuanto más al sur, mayor es la severidad climática, y más afectada se ve la fauna de roedores, en su mayoría de origen centroeuropeo (Palomo *et al.* 1994; Soriguer *et al.* 2003). En este sentido, tenemos que recordar que Sierra Nevada constituye la localidad más suroccidental del área mundial de distribución del topillo nival, donde la especie encuentra su límite ecológico. Mientras que el grueso de la distribución de neverones se sitúa entre los paralelos 40° a 48°, S.Nevada se sitúa entorno al 36°. Además de esta localidad nevadense, sólo otros dos pequeños reductos poblacionales, e igualmente tan aislados de otros núcleos de topillo nival como S.Nevada, se encuentran entorno al paralelo 36° (en las montañas del Líbano y del sur del Mar Caspio, respectivamente) (Nadachowski 1991; Wilson y Reeder 2005). Más al sur de estas

localidades no se conocen poblaciones de topillo nival, siendo esto indicativo de que las condiciones ecológicas (abióticas o bióticas) más allá de este límite no son apropiadas para la existencia de los neverones. Por tanto, la localización geográfica de S.Nevada, en el límite de la distribución del topillo nival, también podría contribuir a explicar las diferencias observadas en el estado y funcionamiento de las poblaciones estudiadas en S.Nevada y Peñalara.

5. **BIBLIOGRAFÍA**

- Bocchini, M. y Nieder, L. (1994). Habitat preferences, structure and population dynamics of *Microtus nivalis* in the Northern Apennines. *Polish Ecological Studies (Pol. ecol. Stud.)*, 20 (3-4):115-121.
- Boonstra, R., Gilberte, B. S. y Krebs, C. J. (1993). Mating systems and sexual dimorphism in mass in microtines. *Journal of Mammalogy*, 74(1):224-229.
- Calder, W. A. (1996). *Size, function and life history*. Courier Dover Publications, New York. 431 pp.
- Carro, F., Pérez-Aranda, D., Lamosa, A., Schmalenberger, H. P., Pardavila, X., Gegúndez, M. y Soriguer, R. (2007). Eficiencia de tres tipos de trampas para la captura de micromamíferos. *Galemys*, 19 (nº especial):73-81.
- Dapson, R. W. y Irland, D. M. (1972). An accurate method of determining age in small mammals. *Journal of Mammalogy*, 53(1):100-106.
- Dobson, F. S. (1992). Body mass, structural size, and life-history patterns of the Columbian ground squirrel. *The American Naturalist*, 140:109-125.
- Fernández-Salvador, R., García-Perea, R. y Ventura, J. (2001). Reproduction and postnatal growth of the Cabrera vole, *Microtus cabrerae*, in captivity. *Canadian Journal of Zoology*, 79 (11):2080-2085.
- Fleming, T. H. (1979). Life-history strategies. Pp. 1-61. En: Stoddart, D. M. (eds.). *Ecology of small mammals*. Chapman and Hall Editions. London. 386 pp.
- Fletcher, Q. E. y Boonstra, R. (2006). Impact of live trapping on the stress response of the meadow vole (*Microtus pennsylvanicus*). *Journal of Zoology*, 270:473-478.

- Fowler, J., Cohen, L. y Jarvis, P. (1998). *Practical statistics for field biology*. Open University Press, Chichester, Uk. 256 pp.
- Frank, F. v. (1954). Beiträge zur Biologie, insbesondere Jugendentwicklung der Schneemaus (*Microtus nivalis* Mart.). *Z. Tierpsychol.*, 11:1-19.
- Gourley y Jannett. (1975). Pine and montane vole age estimates from eye lens weights. *J. Wildl. Manage.*, 39 (3):550-556.
- Gurnell, J. y Flowerdew, J. R. (1990). *Live trapping small mammals. A practical guide*. Occasional publication (The Mammal Society) ; no. 3. London. 39 pp.
- Hansson, L. (1992). Fitness and life history correlates of weight variations in small mammals. *Oikos*, 64:479-484.
- Hansson, L. y Jaarola, M. (1989). Body size related to cyclicity in microtines: dominance behaviour or digestive efficiency? *Oikos*, 55(3):356-364.
- Ims, R. A. (1997). Determinants of geographic variation in growth and reproductive traits in the root vole. *Ecology*, 78(2).
- Innes, D. G. L. y Millar, J. S. (1994). Life histories of *Clethrionomys* and *Microtus* (Microtinae). *Mammal Review*, 24, No.4:179-207.
- Irizar, I., González, J. y Villate, I. (2002). El topillo nival *Chionomys nivalis* en Euskal Herria. Distribución, selección de hábitat y uso del espacio. *Naturzale*, 17:133-143.
- Iskjaer, C., Slade, N. A., Childs, J. E., Glass, G. E. y Korch, G. W. (1989). Body mass as a measure of body size in small mammals. *Journal of Mammalogy*, 70(3):662-667.
- Janeau, G. (1976). *Contribution à l'étude du peuplement micromammalen de l'étage alpin dans la région de Briançon*. Thèse d'Université, Univ. Paris VI. anexos + 157pp pp.
- Janeau, G. (1980). Répartition écologique des micromammifères dans l'étage alpin de la région de Briançon. *Mammalia*, 44 (1):1-25.
- Janeau, G. y Aulagnier, S. (1997). Snow vole- *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Journal of Mountain Ecology*, 4:1-11.
- Juskaitis, R. (2003). Breeding by young-of-the-year females in common dormouse, *Muscardinus avellanarius*, populations in Lithuania. *Annales zoologici fennici*, 40:529-535.
- Kahmann, H. y Halbgewachs, J. (1962). Beobachtungen and der Scheneemaus, *Microtus nivalis* Martins, 1842, in den Bayerishcen Alpen. *Z. Säugetierk*, 10:64-82.

- Keller, B. L. (1985). Reproductive patterns. Pp. 725-778. En: Tamarin, R. H. (eds.). *Biology of new world Microtus*. Special publication n°8. The American Society of mammalogist. 893 pp.
- Krapp, F. (1982). *Microtus nivalis* (Martins, 1842)- Schneemaus. Pp. 261-283. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II.*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Kriegsfels, L. J., Trasy, A. G. y Nelson, R. J. (2000). Temperature and photoperiod interact to affect reproduction and GnRH synthesis in male prairie voles. *Journal of Neuroendocrinology*, 12:533-558.
- Larson, J. S. y Taber, R. D. (1980). Criteria of sex and age. Pp. 143-202. En: Schemnitz, J. D. (eds.). *Wildlife management techniques. Manual*. 4th Edition. The Wildlife Society. 686pp.
- Le Louran, H. y Janeau, G. (1975). Répartition et biologie du campagnol des neiges *Microtus nivalis* Martins dans la région de Briançon. *Mammalia*, 39 (4):589-604.
- Locatelli, R. y Paolucci, P. (1999). Bio-ecologia di arvicola delle nevi *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) nelle Alpi orientali. *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, 48 (supplemento):221-224.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002a). Levels of social tolerance between snow voles *Chionomys nivalis* during over-wintering periods. *Acta Theriologica*, 47 (2):163-173.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002b). Microhabitat use by the snow vole *Chionomys nivalis* in alpine environments reflects rock-dwelling preferences. *Canadian Journal of Zoology*, 80:36-41.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2003). Male dominance and female chemosensory preferences in the rock-dwelling snow vole. *Behaviour*, 140 (5):665-681.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2004). Spacing behaviour and morphology predict promiscuous mating strategies in the rock-dwelling snow vole, *Chionomys nivalis*. *Canadian Journal of Zoology*, 82 (7):1051-1064.
- Martirosyan, B. A. (1964). Propagation biology of the vole *Microtus (Chionomys) nivalis* in Armenian SSR. *Bull. Acad. Sci. Armenian*:1552-1556.

- Metcheva, R., Beltcheva, M. y Chassovnikarova, T. (2008). The snow vole (*Chionomys nivalis*) as an appropriate environmental bioindicator in alpine ecosystems. *Science of the total environment*, 391:278-283.
- Morales Agacino, E. (1936). Un nuevo *Microtinae* del centro de España. *Boletín de la Sociedad Española de Historia Natural*, 36:151-154.
- Moreno, S. y Balbontín, J. (1998). Los roedores. Ardillas, ratones y topillos. Pp. 166-273. En: Blanco, J. C. (eds.). *Mamíferos de España, II. Cetáceos, Artiodáctilos, Roedores y Lagomorfos de la Península Ibérica, Baleares y Canarias*. Editorial Planeta, Barcelona. 383pp.
- Morris, P. (1972). A review of mammalian age determination methods. *Mammal Review*, 2 (3):69-104.
- Nadachowski, A. (1991). Systematics, geographic variation, and evolution of snow voles (*Chionomys*) based on dental characters. *Acta Theriologica*, 36 (1-2):1-45.
- Nadeau, J. H. (1985). Ontogeny. Pp. 254-285. En: Tamarin, R. H. (eds.). *Biology of new world Microtus*. Special publication nº8. The American Society of mammalogist. 893 pp.
- Niethammer, J. (1964). Ein Beitrag zur Kenntnis der Kleinsäuger Nordspanien. *Z. Säugetierk*, 29 (4):193-220.
- Palomo, L. J., Vargas, J. M. y Jiménez-Gómez, M. P. (1994). Distribution patterns in Iberian Peninsula rodents. *Polish Ecological Studies (Pol. ecol. Stud.)*, 20(3-4):497-502.
- Paradis, E., Wang, X., Guédon, G. y Croset, H. (1998). Body mass dynamics in the Mediterranean pine vole *Microtus duodecimcostatus*. *Journal of Zoology*, 245:299-305.
- Peters, R. H. (1983). *The ecological implications of body size*. Cambridge University Press, Cambridge. 329 pp.
- Petrusewicz, K. y Andrzejewski, M. (1962). Natural history of a freeliving population of house mice (*Mus musculus* L.), with particular reference to groupings within the population. *Ekologia Polska (A)*, 10(5):85-122.
- Rosário, I. T. y Mathias, M. L. (2004). Annual weight variation and reproductive cycle of the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) in a Mediterranean environment. *Mammalia*, 68(2-3):133-140.

- Sauer, J. R. y Slade, N. A. (1987a). Size-based demography of vertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18:71-90.
- Sauer, J. R. y Slade, N. A. (1987b). Uinta ground squirrel demography: is body mass a better categorical variable than age? *Ecology*, 68(3):642-650.
- Siegel, S. y Castellan, N. J. (1988). *Nonparametric statistics for the behavioural sciences*. McGraw-Hill. New York. 399 pp.
- Soriguer, R., Carro, F., Márquez, F. J. y Fandos, P. (2003). Diversidad y abundancia de los micromamíferos ibéricos. Pp. 439-478. En: Pérez, J. M. (eds.). *In Memoriam al Prof. Dr. Isidoro Ruiz Martínez*. . Universidad de Jaén, Jaén.
- Wilson, D. E. y Reeder, D. A. M. (2005). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2142 pp.

MODELOS DE CAPTURA-MARCAJE-RECAPTURA
Y DINÁMICA POBLACIONAL
DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

Capítulo 3

MODELOS DE CAPTURA-MARCAJE-RECAPTURA Y DINÁMICA POBLACIONAL DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

1. INTRODUCCIÓN.....	156
2. METODOLOGÍA.....	160
2.1. Métodos de Captura-Marcaje-Recaptura (CMR) para la estima del tamaño poblacional: revisión	160
2.1.1. Poblaciones cerradas vs. poblaciones abiertas	163
2.1.2. Diseño robusto.....	165
2.2. Diseño de muestreo aplicado: sesiones primarias y ocasiones secundarias	168
2.3. Análisis de los datos (programa Mark)	169
2.3.1. Preparación de la base de datos y conceptos básicos del programa MARK.....	169
2.3.2. Construcción y selección del modelo. Aspectos teóricos.....	171
3. RESULTADOS	176
3.1. Construcción del modelo: modelización de los parámetros demográficos	176
3.2. Estimaciones de los parámetros demográficos a partir del modelo construido	182
3.3. Densidad poblacional	189
4. DISCUSIÓN.....	191
4.1. Los parámetros demográficos.....	192
4.2. Densidad poblacional en las colonias de neverones.....	194
4.3. El topillo nival dentro del continuo de las estrategias de reproducción r- y K-	196
5. BIBLIOGRAFÍA	199

1. INTRODUCCIÓN

Una *población* es un grupo de individuos de la misma especie que ocupan un espacio concreto en un tiempo determinado. Ello hace que las poblaciones tengan características propias de conjunto que no se pueden aplicar de una forma aislada a los individuos. Así, por ejemplo, las poblaciones tienen una densidad (número de individuos por unidad de superficie), y una estructura o proporción de individuos de cada clase para cada atributo de interés (e.g. sexo, edad, estado reproductor...) (Williams *et al.* 2002).

El *número de individuos* de una población, no es una característica fija, sino que varía a lo largo del tiempo dentro de unos límites marcados por un equilibrio dinámico entre la natalidad y la mortalidad, la inmigración y la emigración. Estos cuatro procesos primarios que determinan el tamaño poblacional, están a su vez afectados por factores abióticos (temperatura, tipo de sustrato, disponibilidad de agua...) y bióticos, tanto interespecíficos (competencia por los recursos, depredación....) como intraespecíficos (agresividad, procesos denso-dependientes...).

Asimismo, la *estructura poblacional* también varía a lo largo del tiempo y también está íntimamente relacionada con estos cuatro procesos primarios, ya que por un lado condiciona las posibilidades de evolución demográfica, y por otro, es el resultado de la misma. Por ejemplo, la estructura de edades determina el potencial de reproducción, y por ende la natalidad de una población, pero también es a su vez el resultado de la reproducción y la mortalidad, y por tanto es un indicador de la acción simultánea de estos dos procesos.

Íntimamente ligadas a éstas características (abundancia y estructura) y procesos poblacionales (tasas de natalidad, mortalidad, inmigración e inmigración) se encuentra la probabilidad de *supervivencia* y la tasa de *reproducción*, como características individuales que también afectan a la abundancia poblacional. Estas características individuales varían a lo largo de la vida de un organismo, de ahí que se denominen *características de la estrategia vital* (o life history characteristics, en inglés). Además de las citadas, otras características de la estrategia vital son la tasa individual de crecimiento, la edad de

adquisición de la madurez sexual, el tamaño corporal, el número de crías por parto, la frecuencia de los partos, etc...

La *dinámica poblacional* estudia precisamente la variación en la abundancia y estructura de una población a lo largo del tiempo, así como los procesos ecológicos y factores que generan esos cambios, y las interacciones entre los unos y los otros (Batzli 1992).

En la Figura 3-1 se esquematiza este flujo interactivo, en el que múltiples causas y efectos actúan y se retroalimentan a distintos niveles ecológicos: poblacional-individual-ambiental (refiriéndonos como “factores ambientales”, más bien a “factores extrínsecos”, es decir, aquellos que vienen de fuera de la población) (Batzli 1992). La variación de los factores extrínsecos (o ambientales) se integra dentro del ciclo a través de la respuesta de acomodación de los individuos a las nuevas circunstancias del entorno. Esta respuesta conlleva cambios comportamentales y/o fisiológicos en los animales, que a su vez se traducen en una variación de los parámetros individuales de supervivencia, reproducción, etc... Y éstos a su vez se traducen en cambios en la estructura y abundancia poblacional, que conllevan nuevos cambios sobre los factores ambientales.

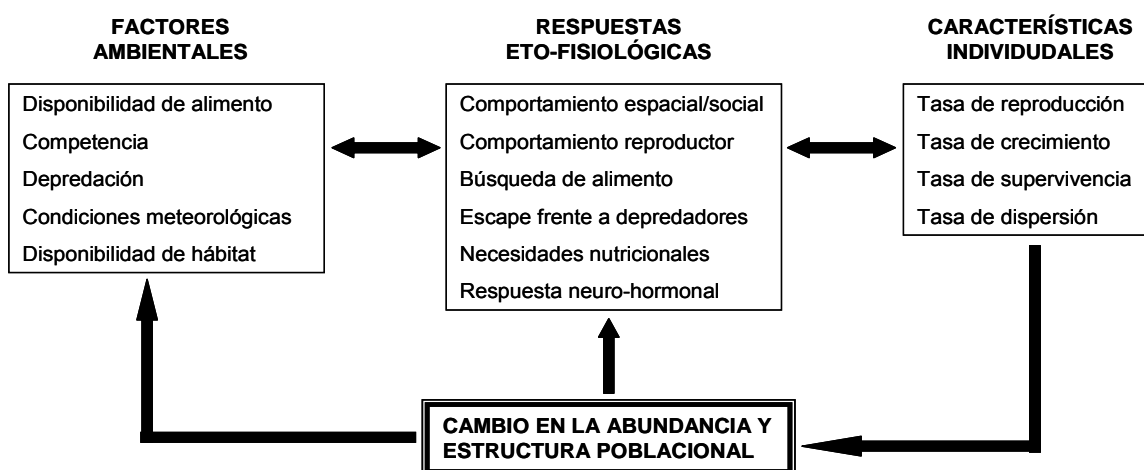


Figura 3-1.- Esquema de las relaciones entre los factores ambientales (o extrínsecos), las respuestas eto-fisiológicas de los animales, las características individuales y los cambios poblacionales (Modificado a partir de Batzli 1992).

El estudio de la dinámica poblacional también nos permite conocer la tendencia demográfica de una población a partir del registro de la variación numérica de la misma a lo largo del tiempo. Conocer y controlar la tendencia demográfica de una población es el objetivo de los planes de manejo y gestión de poblaciones, por lo que el conocimiento de la dinámica poblacional de la especie en cuestión tiene que constituir la base de cualquier gestión. Existen especies cuyos efectivos se consideran que están en sobreabundancia (especies plaga que provocan daños económicos por depredación de las cosechas, o relacionadas con la transmisión de enfermedades), en las que los esfuerzos de manejo habrán de dirigirse a reducir la abundancia. En otras especies “deseables” y poco abundantes, por el contrario, el objetivo es aumentar el número de efectivos, como es el caso de la mayoría de las especies amenazadas y en peligro de extinción. En otros casos, la gestión va dirigida a mantener estables las densidades poblacionales, como en las especies que tienen fines recreativos (caza/pesca) o de interés comercial. En cualquier caso, toda acción de gestión que tenga como fin actuar sobre la abundancia poblacional, habrá de dirigir sus acciones sobre al menos uno de los cuatro procesos poblacionales primarios (natalidad, mortalidad, emigración e inmigración), para lo que es necesario conocer con detalle cómo evoluciona una población en términos de su dinámica poblacional.

De forma general, los roedores son considerados especies plagas o nocivas, por causar problemas sanitarios y/o económicos. Por ejemplo, las ratas y ratones (subfamilia Murinae) provocan graves daños en las infraestructuras y almacenamientos, así como en los cultivos. Además son portadores potenciales de parásitos perjudiciales para la salud humana y animal. Entre las especies que provocan más daños podemos citar la rata negra *Rattus rattus*, la rata común *Rattus norvegicus*, ratón común *Mus musculus* y ratón de campo *Apodemus sylvaticus*. Los topillos (subfamilia Microtinae), por su parte, son especialmente nocivos durante las fases de explosión demográfica, si se trata de especies cíclicas, cuando alcanzan altas densidades que pueden constituir plagas que causan graves daños sobre los cultivos y la agricultura. En este sentido destacan el topillo mediterráneo *Microtus duodecimcostatus*, la rata topo *Arvicola terrestris* y el topillo campesino *Microtus arvalis*, cuyos devastadores efectos en los cultivos de Castilla-León en el año 2007 trascendieron las barreras nacionales (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 2001). Para todas estas especies a menudo son necesarias actuaciones de control para

reducir la superabundancia poblacional. Por el contrario, la especie de estudio, el topillo nival *Chionomys nivalis*, es una de las pocas excepciones entre las especies de microtinos cuyas poblaciones no son abundantes, sino más bien escasas y hasta amenazadas localmente. El topillo de Cabrera *Microtus cabrerae* constituye otra excepción. Llegado el caso de actuar sobre estas especies, el objetivo sería el contrario al descrito anteriormente: reforzar y aumentar sus abundancias poblacionales, para lo que es necesario conocer el funcionamiento de los procesos demográficos de las mismas.

En la actualidad, la información disponible sobre la dinámica poblacional del topillo nival procede en su mayor parte de estudios realizados sobre poblaciones centroeuropeas. Se trata además de estudios bastante antiguos (Le Louran y Janeau 1975; Krapp 1982; Bocchini y Nieder 1994; Janeau y Aulagnier 1997; Locatelli y Paolucci 1999), que se limitan a aportar información del número de individuos diferentes capturados en cada ocasión de muestreo, sin proporcionar estimas de la abundancia total de la población, ni tener en cuenta la posible heterogeneidad de las tasas de captura y de recaptura. Otros parámetros, como por ejemplo la probabilidad de supervivencia, son simplemente calificados como “aparentemente alta”, pero no llegan a ser cuantificados, salvo en el estudio de Yoccoz e Ims (1999) que calculan la probabilidad de supervivencia invernal para el conjunto de la población.

Con este estudio pretendemos cubrir la falta de información acerca de la dinámica poblacional del topillo nival en la Península Ibérica. La obtención de un modelo que explique el “funcionamiento numérico y la evolución temporal de una población” requiere una base de datos amplia, con abundantes ocasiones de captura y recaptura de los individuos. Según hemos visto en el capítulo anterior, la localidad de S.Nevada nos aporta una información bastante deficitaria e incompleta en este respecto, por lo que nos vemos obligados a restringir este estudio a la localidad de Peñalara.

El estudio que aquí presentamos ha sido específicamente diseñado para obtener las estimas de abundancia poblacional y de supervivencia más fiables y precisas, por lo que hemos seguido de forma sistemática y continua un diseño de muestreo de tipo robusto (Pollock 1982). Así mismo, el tratamiento y análisis de los datos lo hemos realizado a

través del programa informático MARK (White y Burnham 1999), desarrollado específicamente para el estudio de poblaciones basado en métodos de captura-marcaje-recaptura, y que sólo en los últimos años ha incorporado la opción del “diseño robusto”. El uso de este programa nos ha permitido cuantificar y modelar por primera vez para el topillo nival parámetros poblacionales tan importantes como la supervivencia y la emigración temporal.

2. METODOLOGÍA

2.1. MÉTODOS DE CAPTURA-MARCAJE-RECAPTURA (CMR) PARA LA ESTIMA DEL TAMAÑO POBLACIONAL: REVISIÓN

Conocer el número de individuos que constituye una población ha sido desde antaño un objetivo básico en estudios demográficos. Este parámetro poblacional puede ser estimado como abundancia relativa o abundancia absoluta, y mediante el empleo de índices directos de abundancia (conteo de animales) o indirectos (conteo de rastros – huellas, excrementos,...- nidos, etc...). La elección del tipo de abundancia con el que se debe trabajar y el método aplicado para ello depende del objetivo del estudio y de las características de la especie de interés. Los índices de *abundancia relativa* siempre están basados en una medida del esfuerzo realizado (tiempo de observación, distancia recorrida, trampas por noche, etc...), de modo que si el esfuerzo es constante entre muestreos proporcionan medidas comparables de abundancia entre especies en un mismo área, o poblaciones de una misma especie en distintas áreas o en una misma área a lo largo del tiempo. Los índices de abundancia relativa dan idea de la tendencia poblacional, pero no del número total de individuos de la población. Si el interés, sin embargo, como en este estudio, es conocer la estructura de sexos y edades de una población, y su evolución en el tiempo, es decir, si el objetivo es conocer la dinámica poblacional y relacionar el número de individuos (o la densidad poblacional) con parámetros demográficos como la tasa de supervivencia, la de reproducción, la de emigración, o inmigración, etc... entonces es necesario trabajar con las estimas de *abundancia absoluta* (Caughley 1977; Krebs 2002).

La naturaleza huidiza, los hábitos nocturnos y el pequeño tamaño de los neverones, y de todos los roedores e insectívoros en general, hacen que la estima de abundancias

mediante el conteo directo de los animales o mediante la cuantificación de los rastros que dejan sea impracticable. Se requiere, por tanto, la captura física de los individuos para la obtención de datos fiables. Las estimas más precisas del tamaño poblacional en micromamíferos se obtienen, pues, mediante la aplicación de métodos basados en *captura-marcaje-recaptura* (CMR) (Sibbald *et al.* 2006).

Los métodos de CMR constan de al menos dos eventos (en tiempo $t=1$ y $t=2$, respectivamente). Un primer evento en t_1 en el que se realiza la *captura in vivo* de los animales, seguida del *marcaje* de los mismos o identificación individual mediante la asignación de una marca única (crotal, microchip, anilla, etc, etc...) y la inmediata liberación de los animales en el lugar donde fueron capturados (Figura 3-2). Y un segundo evento en t_2 , en el que tienen lugar las *recapturas* de los individuos marcados. La estima de la abundancia poblacional mediante CMR se basa en el índice de Lincoln (Lincoln 1930), que despeja N (tamaño poblacional) a partir de la siguiente ecuación:

Índice de Lincoln-Petersen:

$$\frac{R}{n_2} = \frac{n_1}{N} \rightarrow N = \frac{n_1 * n_2}{R}$$

Donde, N = estima del número de individuos en la población

n_1 = número de individuos marcados en el primer muestreo ($t=1$)

n_2 = número de individuos capturados en el segundo muestreo ($t=2$)

R = individuos recapturados (marcados en $t=1$ y recapturados en $t=2$)

Es decir, la proporción de individuos marcados en una población después del primer muestreo (n_1/ N), es equivalente a la proporción de animales ya marcados (i.e. recapturados) en el segundo muestreo (R/ n_2).

Frente a la aparente simplicidad del razonamiento, existe una serie de presupuestos y restricciones teóricas referentes al diseño del estudio y al comportamiento de la población en respuesta a las capturas que, si no se cumplen, el modelo dará estimas de abundancia sesgadas. Las asunciones de los métodos de CMR son que (Southwood 2000):

1. las marcas no afectan a la supervivencia de los animales y que no se pierden pues implicaría una infravaloración del número de individuos marcados (n_1) y en consecuencia una supervaloración del tamaño poblacional (N)

2. los animales marcados se integran y mezclan completamente en la población
3. todos los individuos de la población tienen igual probabilidad de ser capturados. Esto implica asumir, siguiendo a Otis *et al.* (1978) y a White *et al.* (1982) que no existe:
 - a) heterogeneidad individual o innata (M_h = heterogeneity model) en la tasa de capturabilidad debido a características individuales. Si existiesen diferencias entre grupos habría que realizar cálculos diferentes del tamaño de la población para cada uno de los subgrupos
 - b) heterogeneidad temporal (M_t = time model), la cual se produce cuando la probabilidad de captura de la población cambia entre sesiones de trampeo
 - c) heterogeneidad comportamental (M_b = behavioural model) tras la captura inicial, y que por tanto los animales no desarrollan rechazo ni afinidad por las trampas. La violación de este presupuesto conllevaría una infravaloración del tamaño poblacional si los individuos marcados tuviesen una mayor capturabilidad (trap happiness), mientras que la menor capturabilidad de éstos (trap shyness) implicaría una sobrevaloración de los resultados
4. el muestreo se realiza en un intervalo de tiempo discreto y corto, y los animales son liberados inmediatamente.



Figura 3-2.- Liberación de topillos nivales, tras su captura y marcaje.

A pesar de estas duras restricciones, los métodos de censo basados en CMR son sin duda los que han tenido mayor interés en el campo de la demografía, pues no sólo son precisos, sino que también son muy informativos, ya que no sólo aportan información sobre el tamaño poblacional, sino que también se pueden utilizar para la estima de otros muchos parámetros demográficos como las tasas de natalidad y de mortalidad, las tasas de emigración y de inmigración, la tasa de fecundidad específica por edades, la tasa de dispersión, la tasa de crecimiento poblacional, etc, etc...(Tellería 1986; Soriguer *et al.* 1997).

2.1.1. Poblaciones cerradas vs. poblaciones abiertas

Existen dos tipos fundamentales de modelos poblacionales para el estudio de la abundancia basados en CMR: aquellos que se aplican sobre poblaciones demográficamente “cerradas” y los que se aplican sobre poblaciones demográficamente “abiertas”.

Se considera que una **población es cerrada** si en ella no hay entrada ni salida de individuos, y por tanto no hay cambios en el tamaño poblacional entre muestreos. Ello requiere que los muestreos se realicen en un intervalo de tiempo muy breve para no dar cabida a posibles nacimientos o muertes, emigrantes o inmigrantes. White *et al.* (1982) y Williams *et al.* (2002) presentan una completa revisión de los métodos aplicados al estudio de poblaciones cerradas.

Además de las asunciones comunes a todos los métodos de CMR, este tipo de modelos asume que (White *et al.* 1982; Southwood y Henderson 2000; Williams *et al.* 2002):

- la población es cerrada
- el “destino” de cada animal es independiente de la probabilidad de captura

Entre los modelos cerrados para la estima del tamaño poblacional destaca el *método de Lincoln-Petersen* (Lincoln 1930) por su simplicidad, pues únicamente requiere un evento de captura-marcaje, y un evento de recaptura. Entre estos dos eventos el tamaño

poblacional debe ser constante y se estima a partir del índice de Lincoln-Petersen descrito más arriba.

Aunque sencillo, el estimador de Lincoln-Petersen da estimas erróneas de la abundancia si la probabilidad de captura no es homogénea en la población. Por este motivo Otis *et al.* (1978) desarrollaron CAPTURE, un software capaz de incorporar todas las fuentes de variabilidad posibles en la tasa de captura testando modelos específicos (Mh, Mt, Mb y sus combinaciones). Esto hace que los modelos cerrados actuales sean capaces de acomodar la respuesta diferencial al trampeo y la heterogeneidad individual de las probabilidades de captura, proporcionando estimas del tamaño poblacional robustas (Otis *et al.* 1978; Pledger 2000).

Además del tamaño muestral (N), los modelos cerrados también sirven para estimar la probabilidad de captura (P) y de recaptura (C). Sin embargo asumen que la probabilidad de supervivencia (S) es *uno* en todos los intervalos (si es que hubiese más de uno), y por tanto no estiman este parámetro (Southwood y Henderson 2000).

Por el contrario, una **población abierta** es aquella en la que se permite tanto el flujo, como las pérdidas y ganancias de individuos y en consecuencia que el tamaño poblacional varíe entre periodos de muestreo en función de las tasas de natalidad y mortalidad, emigración o inmigración. Por tanto, además del número de individuos en cada periodo de muestreo, estos métodos permiten calcular la probabilidad de supervivencia (S), la tasa de reclutamiento y la tasa de movimiento (emigración/inmigración) entre muestreos.

Pollock *et al.* (1990) y Williams *et al.* (2002) revisan exhaustivamente los modelos aplicables al estudio de poblaciones abiertas. Los modelos para el estudio de poblaciones abiertas tienen también una serie de asunciones propias que se añaden a las comunes para los métodos de CMR y que son las siguientes (Seber 1982; Pollock *et al.* 1990):

- la población es abierta
- las probabilidades de recaptura y de supervivencia no están afectadas por el hecho de que los animales estén marcados
- la duración de los muestreos es mínima en relación al intervalo entre los mismos

Entre los modelos abiertos destaca el método de Cormack-Jolly-Seber (CJS), publicado independientemente por Cormack (1964), Jolly (1965) y Seber (1965). Este método destaca porque está basado en un modelo estocástico que, por tanto, usa probabilidades de supervivencia entre muestreos, más correcto que los modelos determinísticos que asumen un valor fijo para la supervivencia. El modelo de CJS está basado en el modelo de Lincoln-Petersen, pero requiere al menos tres sesiones de captura. Probablemente es el modelo más usado pues produce buenas estimas siempre y cuando una gran proporción de la población haya sido muestreada (Southwood y Henderson 2000), y en concreto las estimas de supervivencia tienden a ser bastante robustas frente a la variabilidad interindividual en la probabilidad de captura (Carothers 1973; Carothers 1979), pero no así las estimas de abundancia y reclutamiento.

2.1.2. **Diseño robusto**

Con el objetivo de conseguir estimas más robustas frente a la heterogeneidad en las probabilidades de captura, Pollock (1982) combinó en un único modelo las ventajas de los métodos de CMR para el análisis de poblaciones cerradas y abiertas. De este modo se beneficiaría de la robustez de los modelos para poblaciones cerradas en las estimas de abundancia o tamaño poblacional (N) y de la robustez del modelo de Cormack-Jolly-Seber para las estimas de supervivencia (S). Para ello, Pollock (1982) propuso un esquema de muestreo basado en dos escalas temporales y constituido por una serie de muestreos cortos en los que la población se supone cerrada, separados por amplios intervalos de tiempo a lo largo de los cuales se esperan pérdidas y ganancias de efectivos. De una forma más técnica, el **diseño robusto de Pollock** consiste en una serie de k muestreos primarios (sesiones primarias de muestreo o periodos), espaciados en el tiempo, y en los que la población se considera abierta, constituidos por l muestreos secundarios (ocasiones de muestreo o trampeo), en los que la población se asume cerrada. Su representación clásica se puede ver en la Figura 3-3.

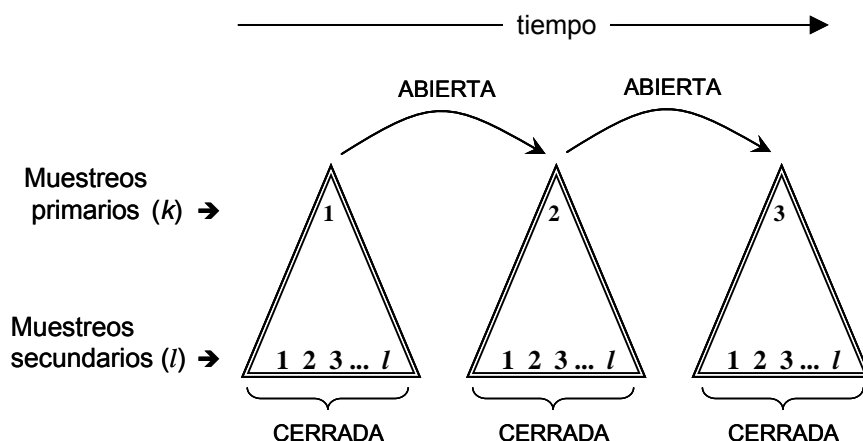


Figura 3-3.- Representación esquemática del diseño robusto de Pollock (1982). Los periodos primarios de muestreo (k) están distanciados por intervalos de tiempo relativamente amplios a lo largo de los cuales la población es abierta a pérdidas y ganancias. Los periodos secundarios de muestreo están separados por intervalos de tiempo relativamente cortos a lo largo de los cuales la población se considera demográficamente cerrada (Modificado a partir de Williams *et al.* 2002).

Para cada ocasión secundaria de muestreo (l) se estima:

- P = probabilidad de capturar un animal por primera vez dado que está disponible para su captura en el área de estudio
- C = probabilidad de recapturar un animal dado que está disponible para su captura en el área de estudio
- N = tamaño poblacional, es decir, número de individuos de la población presentes en el área trampeada durante las l sesiones secundarias

Complementariamente, los intervalos largos de tiempo entre sesiones primarias (k) permiten las estimas de:

- S = probabilidad de supervivencia aparente –apparent survival, en inglés-: es la probabilidad de que un animal siga vivo y permanezca en el área de estudio, y por tanto esté disponible para su captura. Se habla de supervivencia *aparente* porque no se puede distinguir entre mortalidad y emigración permanente
- γ'' (*gamma* doble prima) = probabilidad de que un animal se haga no disponible para su captura, cuando sí lo estaba en el periodo de muestreo anterior. Es decir, es la probabilidad de que un animal abandone el área de muestreo. Se interpreta como

la tasa de emigración temporal fuera del área de estudio. De ahí que $(1-\gamma'')$ sea la probabilidad de que el animal siga disponible para su captura (i.e. presente en el área de trampeo)

- γ' (*gamma prima*) = probabilidad de que un animal siga sin estar disponible para su captura. Es decir, no estaba disponible (presente) para su captura en el área de trampeo en el muestreo anterior ni en el actual. De esta definición se deriva que $(1-\gamma')$ es la probabilidad de hacerse disponible para la captura, es decir, de volver al área de muestreo. Dicho de otro modo $(1-\gamma')$ se interpreta como la tasa de inmigración al área de estudio (Kendall 2001; Williams *et al.* 2002; Cooch y White 2007)

Como es de esperar, las asunciones del diseño robusto son una combinación de las asunciones de los métodos para el análisis de poblaciones cerradas y de poblaciones abiertas (Kendall 2001; Williams *et al.* 2002; Cooch y White 2007).

Como se puede observar, el diseño robusto de Pollock es un modelo muy parametrizado, y complejo pero precisamente por eso aporta un mayor sentido biológico a los análisis de dinámica poblacional. Sus ventajas frente a otros modelos se listan a continuación (Pollock *et al.* 1993; Sandercock 2006):

- mayor robustez frente a la heterogeneidad en la probabilidad de captura por lo que proporciona estimas más precisas de supervivencia y abundancia (Kendall *et al.* 1995; Kendall *et al.* 1997; Kendall 1999).
- la probabilidad de captura, el tamaño poblacional y el reclutamiento pueden calcularse para todos los periodos primarios (pues se estiman a partir de los muestreos secundarios), mientras que con el modelo de Cormack-Jolly-Seber estos parámetros no son estimables para el primer y último periodo (Kendall y Pollock 1992).
- identificación y cuantificación de los distintos tipos de emigración temporal –aleatoria, de Markov o no emigración- (Kendall y Nichols 1995; Kendall *et al.* 1997).

- distinción entre nacimientos e inmigración en el reclutamiento poblacional (Nichols y Pollock 1990).

Para ampliar información detallada acerca del diseño robusto, sus características, parámetros, asunciones y modelización se pueden consultar los trabajos de Kendall *et al.* (1997 y 1995) y de Kendall y Nichols (1995).

2.2. DISEÑO DE MUESTREO APLICADO: SESIONES PRIMARIAS Y OCASIONES SECUNDARIAS

Atendiendo a las características y ventajas expuestas más arriba acerca del diseño robusto y al hecho de que está específicamente recomendado para estudios con micromamíferos (Nichols y Pollock 1983; Nichols *et al.* 1984), consideramos que el diseño robusto de Pollock es el modelo más adecuado para analizar la dinámica poblacional del topillo nival, y en base a ello hemos planificado el diseño de muestreo.

La metodología de campo aplicada (periodos de trampeo, fecha y duración de los mismos, tipo y número de trampas, tipo de cebo, área de estudio, marcaje y manejo de los animales, toma de datos, etc...) ya se ha descrito con detalle en el capítulo anterior, por lo que aquí únicamente especificaremos las características del diseño de muestreo aplicado, utilizando la terminología seguida en el “diseño robusto”.

El seguimiento de la colonia de Peñalara se ha llevado a cabo a lo largo de siete sesiones primarias de muestreo ($k=7$), cada una de tres noches de duración (es decir, tres ocasiones secundarias dentro de cada sesión primaria, $l=3$). El primer muestreo tuvo lugar en otoño de 2004, repitiéndose los muestreos con una periodicidad estacional, con la excepción de los muestreos de invierno que no pudieron realizarse porque la nieve imposibilitó el trabajo. Por tanto las siete sesiones primarias de muestreo se corresponden con: otoño_2004, primavera_2005, verano_2005, otoño_2005, primavera_2006, verano_2006 y otoño_2006.

2.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS (PROGRAMA MARK)

Hemos utilizado el programa MARK (White y Burnham 1999) pues es el programa más útil y completo para el análisis de modelos de captura-marcaje-recaptura (CMR). Además incluye prácticamente todos los modelos implementados en otros programas (e.g. SURGE, CAPTURE) e incorpora modelos para los que otros softwares no ofrecen posibilidad, como precisamente es el caso para el modelo robusto (Williams *et al.* 2002).

Dada la complejidad del proceso de formulación, construcción y selección de modelos para la estima de los parámetros demográficos, el grueso de este apartado está dedicado a cubrir concienzudamente estas cuestiones.

2.3.1. Preparación de la base de datos y conceptos básicos del programa MARK

El primer paso para analizar los datos de CMR utilizando el programa MARK es construir el historial de captura de cada animal. Como se ha indicado más arriba, las trampas se revisaron tres veces cada día. Sin embargo, para facilitar el análisis, y sobre todo por no aportar información relevante, decidimos aunar estos tres eventos en un único evento diario de captura, o de no captura, para cada animal. De esta forma, el historial de captura completo de un animal está compuesto por 21 eventos (7 sesiones * 3 días). Los intervalos de tiempo entre sesiones de muestreo se midieron en meses (e.g. 81 días * mes/30 días = 2.7 meses), para que la supervivencia (y resto de parámetros) entre sesiones respondiese a una tasa mensual (Cooch y White 2007).

A continuación hay que definir los grupos de interés, para los que se quiere conocer los parámetros poblacionales. El sexo y la edad de los individuos son variables de nuestro interés. El análisis preliminar de los datos de los topillos nivales de Peñalara nos permitió reconocer dos clases de edad (ver capítulo anterior), en función del peso de los animales, su condición reproductora, y la evolución de éstos a lo largo del tiempo (Janeau 1980; Gurnell y Flowerdew 1990; Janeau y Aulagnier 1997). Distinguimos pues, entre adultos (individuos reproductores, nacidos el año anterior) y jóvenes (individuos inmaduros,

nacidos el año presente). Asimismo comprobamos que el paso gradual de los animales de una clase de edad a la otra cumple las asunciones que el diseño robusto requiere específicamente cuando se usa para el análisis de modelos demográficos dependientes de la edad (age dependent models). Estas asunciones son que: 1) el intervalo de tiempo entre ocasiones primarias de muestreo debe ser al menos tan largo como el tiempo requerido para que los animales pasen de una clase de edad a la siguiente; 2) todos los animales clasificados como juveniles en un periodo de muestreo dado, son producto de la reproducción *in situ* (Pollock *et al.* 1993).

A partir de estos datos elaboramos el fichero de entrada para el programa MARK, identificando cuatro grupos de interés (2 clases de edad * 2 sexos) y seis intervalos de tiempo (recordar que en Peñalara se muestreó en siete ocasiones primarias). De este modo trataríamos de estimar los distintos parámetros demográficos para cada grupo (hembras adultas, hembras jóvenes, machos adultos y machos jóvenes), y su variación en el tiempo, siempre siendo posible agruparlos posteriormente si los datos no fuesen suficientes como para permitir los cálculos de las estimas intragrupales.

Hemos visto anteriormente que el diseño robusto permite la estima de hasta seis parámetros poblacionales (P , C , N , S , γ'' y γ'). En nuestro caso, estos seis parámetros, se traducen en realidad en 144 posibles estimas (6 parámetros * 2 clases de edad * 2 sexos * 6 intervalos de tiempo). Sin embargo, el número de capturas y recapturas con las que contamos no es suficiente para calcular simultáneamente todos estos posibles parámetros. Ello nos obligó a emplear la aproximación *ad hoc* del diseño robusto, originalmente propuesta por Pollock (1982), y mediante la cual por un lado se selecciona un modelo cerrado para estimar la abundancia en cada periodo secundario de muestreo. Y por otro lado, se agrupan los l eventos de trampeo de cada muestreo secundario para estimar la supervivencia entre sesiones primarias usando el modelo de Cormack-Jolly-Seber (Pollock 1982; Pollock *et al.* 1993). Es decir, en la aproximación *ad hoc* del diseño robusto, los datos de los muestreos primarios y los secundarios se analizan de forma independiente. Existe otra alternativa, basada en la *probabilidad conjunta* (fully-likelihood based approach) (Kendall *et al.* 1995), en la que ambos tipos de datos se modelan simultáneamente dando una única probabilidad conjunta de los modelos emergentes. De

aquí se deriva indirectamente que el análisis mediante esta aproximación es más complejo, y requiere una mayor cantidad de datos u observaciones (i.e. información de partida) para construir los modelos. Por esta razón centramos nuestro estudio en la aproximación *ad hoc* que, en cualquier caso, sigue siendo la más común (Williams *et al.* 2002).

2.3.2. **Construcción y selección del modelo. Aspectos teóricos**

Test de la bondad de ajuste

La selección del modelo más adecuado se inicia típicamente con un test de la bondad de ajuste (goodness of fit test – GOF-) sobre el modelo general (del que se parte, generalmente el más parametrizado), para confirmar que los datos cumplen las asunciones teóricas del modelo que se va a implementar, y que la estructura del modelo es adecuada para explicar los datos. De esta forma nos aseguramos que la estructura de los modelos creados a partir del modelo general es correcta y puede, potencialmente, representar la variabilidad explicable de los datos (Anderson *et al.* 1994; Cooch y White 2007).

El ajuste (o la falta de ajuste) de los datos a las asunciones del modelo se cuantifica con una medida de dispersión denominada factor de inflación de la varianza (variance inflation factor), y que se representa como \hat{c} (Burnham *et al.* 1987; Lebreton *et al.* 1992):

$$\hat{c} = \frac{X^2}{gl} \quad \text{donde:}$$

X^2 = estadístico chi-cuadrado, mide el ajuste del modelo a los datos
 gl = grados de libertad del modelo

Si el modelo se ajusta perfectamente a los datos, $\hat{c} = 1$. Si $\hat{c} \neq 1$, no hay un buen ajuste. Entonces hay que corregir la falta de ajuste de los modelos, teniendo en cuenta este valor de \hat{c} , para que la selección del modelo más parsimonioso sea correcta (Anderson *et al.* 1994). No obstante el modelo general habrá de rechazarse si $\hat{c} > 10$, pues entonces la desviación es tan alta que ya no es posible acomodar su estructura a los datos.

En la actualidad aún no se han desarrollado test específicos para comprobar el ajuste de la bondad en modelos que siguen el “diseño robusto” (Williams *et al.* 2002; Cooch y White 2007). Por tanto optamos por una aproximación alternativa mediante la que ejecutamos un test de la bondad de ajuste sobre los datos del modelo abierto contenido dentro del diseño robusto (Wilson *et al.* 2006). Utilizamos el programa RELEASE, accesible desde MARK, para calcular el ajuste (\hat{c}) de los datos de las sesiones primarias de muestreo a un modelo de tipo abierto.

Tasa de supervivencia (S) y probabilidad de captura (P'), entre sesiones primarias

Siguiendo el planteamiento de la aproximación *ad hoc* del diseño robusto utilizamos los datos de las sesiones primarias de trampeo para estimar la supervivencia (S) entre periodos de muestreo. Para ello creamos un fichero de entrada de datos nuevo en el que agrupamos los datos de captura de cada sesión secundaria en un único evento, construyendo así un historial de captura de siete ocasiones ($k = 7$) para cada animal. A continuación modelamos la supervivencia a través del módulo de “Recaptures only” del programa MARK, pues es el modelo más sencillo para la estima de la tasa de supervivencia aparente. Este modelo estima simultáneamente **S** (supervivencia aparente) y **P'** (probabilidad de captura) entre sesiones primarias. (Utilizamos aquí la P' -prima-, probabilidad de captura entre periodos de muestreo, para distinguirla de la P , probabilidad de captura entre ocasiones secundarias, es decir, dentro de un mismo periodo de muestreo).

El modelo más complejo del que partimos incluye los tres factores de interés (sexo, edad y tiempo, entendido como periodo de muestreo) y su interacción. Siguiendo la nomenclatura convencional propuesta por Lebreton (1992) este modelo se identifica con el nombre $S(s*a*t)P(s*a*t)$, reflejando que ambos parámetros dependen del sexo ($sex = s$), la edad ($age = a$) y el tiempo ($time = t$), y su interacción. A partir de este modelo general fuimos reduciendo la complejidad, por un lado, eliminando interacciones, y por otro lado agrupando clases dentro de cada factor buscando modelos reducidos con sentido biológico. Por ejemplo, para comprobar si la supervivencia (o la tasa de captura) era dependiente del sexo agrupamos hembras y machos en un único grupo. También comprobamos si la

variación en el tiempo respondía mejor a una variación estacional (otoño, primavera e invierno), en vez de considerar los siete periodos de muestreo, o si por el contrario no había efecto temporal, etc, etc... De esta forma generamos una lista de posibles modelos para explicar conjuntamente la supervivencia y la probabilidad de captura observadas (Tabla 3-1). El mejor modelo es aquel que mejor explica la variación en los datos usando el menor número de parámetros posible. La selección del mejor modelo se hizo en base al AIC (Akaike's Information Criterion) (Akaike 1973) siguiendo la metodología de Burnham y Anderson (2002).

El uso del AIC proviene de la teoría de la información, y se define como:

$$AIC = -2 (\log L) + 2K \quad \text{donde:}$$

($\log L$) es el logaritmo de la probabilidad del modelo (log transformed likelihood)

y K es el número de parámetros del mismo.

El modelo más parsimonioso (el que mejor se ajusta a los datos con el menor número de parámetros) es aquel que tiene un menor valor de AIC. Cuantos más parámetros tenga el modelo, mejor será el ajuste (al igual que mayor es la variabilidad explicada - R^2 - en una regresión múltiple, cuanto mayor es el número de términos), sin embargo, la estima de los parámetros será menos precisa. De ahí que el término $2K$, precedido del signo negativo, se interprete como una penalización del ajuste del modelo por el número de parámetros. Por estas características, Huggins (1991) y Lebreton *et al.* (1992) recomiendan el uso del AIC para la selección de modelos en el análisis de datos de captura-marcaje-recaptura, pues representa un criterio bueno y justificado para la selección del modelo más parsimonioso (Burnham y Anderson 2002; Cooch y White 2007). Los modelos se ordenaron en orden creciente del AICc – AIC corregido para tamaños muestrales pequeños- (Hurvich y Tsai 1989), implementado en MARK automáticamente. Y se usó: la probabilidad del modelo (model likelihood), la diferencia en el AICc con respecto al modelo superior (ΔAIC) y los valores normalizados del AICc (normalized AICc weights) para comparar el ajuste de cada modelo a los datos dados. Los “AICc weights” se pueden interpretar como el peso, o la evidencia relativa a favor de un modelo particular. Para ampliar en estos conceptos y su formulación consultar Burnham y Anderson (2002), y Cooch (2007).

De este modo seleccionamos los modelos que mejor responden a la variabilidad observada en la supervivencia (**S**) y en la probabilidad de captura (**P'**) entre sesiones primarias.

Probabilidad de captura (P) y de recaptura (C) dentro de cada sesión primaria

Para modelar la probabilidad de capturar (**P**) y de recapturar (**C**) un animal dentro de una misma sesión primaria realizamos un estudio preliminar en el que construimos siete ficheros de entrada (uno para cada sesión) y los modelamos en el módulo “Closed captures” del programa MARK. A través de este módulo se puede acceder al programa CAPTURE (incorporado en MARK), que está específicamente diseñado para detectar las posibles desviaciones de la asunción de “igualdad en la tasa de captura y de recaptura”. CAPTURE es capaz de identificar la fuente de origen que produce heterogeneidad en la tasa de recaptura testando hasta ocho modelos con distinto tipo de heterogeneidad (Otis *et al.* 1978; White *et al.* 1982). Estos modelos son: Mo (modelo nulo o de no heterogeneidad en las tasas de captura-recaptura), Mh (modelo con heterogeneidad individual), Mb (modelo con heterogeneidad comportamental), Mt (modelo con heterogeneidad temporal), y las combinaciones de estos modelos, Mbh, Mth, Mtb y Mtbh (Tabla 3-2).

Probabilidad de emigración (γ'') y de inmigración ($1 - \gamma'$) temporal

El movimiento de los individuos fuera y/o dentro del área de trampeo se estimó a través del módulo “Robust design” del programa MARK. Este módulo permite analizar el modelo de emigración temporal de los individuos, distinguiendo entre tres tipos:

- 1) emigración aleatoria (*random emigration*), donde $\gamma' = \gamma''$ para cada intervalo, pudiendo ser distintas entre intervalos. Es decir, que la probabilidad de que un animal esté disponible para su captura (presente) en el área de trampeo en un muestreo dado es la misma para los individuos que en el muestreo previo estaban dentro del área trampeada que para los que estaban fuera de la misma.

- 2) emigración de tipo Markov (*Markovian emigration*), en el que la probabilidad de que un animal permanezca fuera o dentro del área de muestreo en un intervalo de tiempo (i.e. esté disponible para su captura o no), está condicionado a lo que hizo en el intervalo de tiempo anterior.
- 3) modelo nulo o de no emigración, donde $\gamma'' = \gamma' = 0$, y en el que los animales no abandonan ni entran en el área de trampeo.

Construimos y testamos estos tres modelos de emigración, así como un cuarto derivado del modelo *random*, pero en el que $\gamma'' = \gamma' = \text{constante}$ (entre periodos) (Tabla 3-3). La selección del modelo que mejor se ajusta a los datos observados se realizó a partir del valor del AIC y parámetros derivados, según se ha explicado anteriormente.

N, abundancia poblacional en cada periodo de muestreo

Dentro de los posibles estimadores del tamaño poblacional en poblaciones cerradas (i.e. dentro de cada periodo) escogimos el estimador de Huggins (Huggins 1989; Huggins 1991) pues aparentemente responde mejor frente a tamaños muestrales pequeños (White 2002; Bowden *et al.* 2003; Converse *et al.* 2004). Aunque tiene otras ventajas asociadas, como permitir la incorporación de covariables individuales al modelo, el estimador de Huggins no es tan eficiente en las estimas de N como los modelos cerrados clásicos (Otis *et al.* 1978), pues genera unos intervalos de confianza muy amplios. Sin embargo, cuando se trata de pequeños tamaños muestrales, los modelos cerrados clásicos, a menudo fallan en las estimas del tamaño poblacional, y se limitan a reportar, en su lugar, el número de individuos distintos capturados en cada muestreo, con un intervalo de confianza de cero (White 2002; Converse *et al.* 2004). Además, el estimador de Huggins no incluye el tamaño poblacional (N) como parámetro del modelo, sino que las estimas de N se derivan a partir de las probabilidades de captura estimadas (Huggins 1989; Huggins 1991). Ello implica que “no gastamos” datos para la estima de N, y que por tanto están disponibles para estimar otros parámetros con mayor precisión. N se calcula algebraicamente a partir de P, de acuerdo con la fórmula:

$$N = \frac{M(t+1)}{1 - ((1-P_1)(1-P_2)(1-P_3)...(1-P_I))} \quad \text{donde:}$$

el numerador = número de animales diferentes capturados

el denominador = probabilidad de ser detectado en una o más ocasiones

[el término $((1-P_1)(1-P_2)(1-P_3))$ responde a la probabilidad de que se dé la historia de captura: 000]

3. RESULTADOS

En este apartado describimos extensivamente el proceso seguido con el programa MARK que nos conduce hasta las estimas de los parámetros demográficos en Peñalara a través del modelo más adecuado. Para ello vamos aportando los resultados de cada paso del proceso contemplado en el apartado de Metodología.

3.1. CONSTRUCCIÓN DEL MODELO: MODELIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS

Test de la bondad de ajuste (GOF)

Los datos de las sesiones primarias de muestreo cumplen las asunciones de los modelos abiertos. El Test_2 del programa RELEASE confirma que los datos cumplen la asunción de “homogeneidad en la tasa de capturas” ($X^2 = 2.35$ (gl=2); $p = 0.31$). Asimismo, el Test_3, indica que los datos no difieren significativamente con respecto de la hipótesis nula de “homogeneidad en la tasa de supervivencia” ($X^2 = 0.57$ (gl=5); $p = 0.99$). A partir del test global Test_2 + Test_3 ($X^2 = 2.92$ (gl=9); $p = 0.97$) obtenemos que $\hat{c} = 2.92/9 = 0.325$ (Burnham *et al.* 1987).

Así como para valores de $\hat{c} > 1$ se entiende que los datos no se ajustan al modelo y que hay que acomodar una serie de medidas para que la selección del modelo más parsimonioso sea correcta (Anderson *et al.* 1994), para valores de $\hat{c} < 1$ no hay un consenso claro sobre cómo actuar. Aquí hemos seguido las sugerencias de los autores del programa MARK, quienes recomiendan en estos casos no hacer ningún ajuste de los datos (Cooch y White 2007), sino considerar como si $\hat{c} = 1$.

Modelización de la tasa de supervivencia (S) y la probabilidad de captura (P'), entre sesiones primarias

Se construyeron y compararon una serie de modelos que diferían unos de otros en los factores de los que dependen las estimas de S y P', y en el grado de interacción entre aquellos (modelos interactivos vs. aditivos). Para abreviar el nombre de los modelos hemos codificado cada factor según el siguiente esquema:

- (s) → sex (sexo), con dos clases: hembras y machos
- (a) → age (edad), con dos clases: adultos y jóvenes
- (t) → time (tiempo), con 6 clases, que se corresponden con los intervalos de tiempo entre cada uno de los 7 muestreos primarios
- (ss) → season (estación), con tres clases, correspondientes a los intervalos de tiempo entre: otoño-primavera, primavera-verano y verano-otoño
- (.) → dot model (modelo constante, no depende de ningún factor)
- + → indica modelo aditivo
- * → indica modelo interactivo

Primero construimos los modelos en los que S y P' son constantes (dot model) y en los que ambos parámetros son únicamente dependientes del tiempo (= sesión de muestreo), la edad, el sexo o la estación. La comparación de estos cinco modelos puso de manifiesto cuán bajo era el efecto del sexo y del tiempo, con una probabilidad de que los modelos en los que S y P' dependen de estos factores fuesen los más adecuados inferior al 1% (i.e. model likelihood < 0.01). Por tanto, descartamos el efecto del sexo, y el efecto temporal a

lo largo de los muestreos fue sustituido por el efecto estacional. Con los factores restantes (estación y edad) elaboramos el modelo más complejo para el que nuestros datos pueden dar estimas robustas. Para ello descartamos además las interacciones entre factores, y construimos el modelo general: $S(ss+a)P'(ss+a)$. A partir de este modelo fuimos eliminando factores de uno o de los dos parámetros para construir nuevos modelos.

Los modelos se ordenaron en orden creciente de AIC (Tabla 3-1). Según Burnham y Anderson (2002), cuando la diferencia en el AIC entre un modelo y el de menor AIC ($\Delta AICc$) es < 2 , se considera que ambos tienen un ajuste muy bueno. Si el $\Delta AICc$ oscila entre 2 y 7, el modelo tiene un peor ajuste pero aún puede ser apropiado, y si $\Delta AICc > 7$, entonces el ajuste del modelo a los datos es prácticamente nulo. Según este punto de corte deberíamos considerar los ocho primeros modelos como posibles modelos para explicar los datos, pues su $\Delta AICc < 7$. Sin embargo también hay que tener en cuenta que la probabilidad de los modelos desde el número_6 en adelante es menor del 10% (i.e. model likelihood < 0.1), con lo que la probabilidad de que alguno de esos modelos sea el más adecuado es muy baja.

	Modelo	AICc	$\Delta AICc$	AICc weight	Model Likelihood	K	Deviance
1	$S(ss)P'(.)$	146.19	0.00	0.40	1.00	4	66.82
2	$S(ss+a)P'(.)$	146.72	0.54	0.31	0.77	5	65.10
3	$S(ss+a)P'(a)$	148.88	2.69	0.10	0.26	6	64.93
4	$S(a)P'(.)$	150.11	3.92	0.06	0.14	3	72.95
5	$S(ss)P'(ss)$	150.30	4.11	0.05	0.13	6	66.35
6	$S(ss+a)P'(ss)$	150.92	4.73	0.04	0.09	7	64.60
7	$S(a)P'(a)$	151.39	5.20	0.03	0.07	4	72.02
8	$S(ss+a)P'(ss+a)$	153.25	7.06	0.01	0.03	8	64.48
9	$S(.)P'(.)$	155.10	8.91	0.00	0.01	2	80.09
10	$S(s)P'(s)$	158.38	12.20	0.00	0.00	4	79.02
11	$S(t)P'(t)$	159.03	12.84	0.00	0.00	10	61.19

Tabla 3-1.- Selección del modelo más parsimonioso para los parámetros S (supervivencia) y P' (probabilidad de captura) entre sesiones primarias, bajo un modelo abierto. Los modelos están ordenados en orden ascendente de AICc. AICc = Criterio de información de Akaike corregido para muestras de pequeño tamaño. $\Delta AICc$ = diferencia en el AIC con respecto al modelo con menor AIC. AICc weight = valor normalizado del AICc. Model likelihood = probabilidad de ser el modelo más adecuado K = número de parámetros. Los códigos nomenclaturales de los modelos están explicados en el texto.

El haber modelado S y P' separadamente del resto de los parámetros nos ha permitido reducir el número de posibles modelos a únicamente los cinco modelos superiores de la Tabla 3-1. Dado que existe incertidumbre sobre cual de los cinco es el mejor, todos habrán de ser tenidos en cuenta y modelados otra vez junto con el resto de los parámetros implicados, en el módulo del “Diseño robusto”. En cualquier caso estos análisis ya nos están avanzando que la supervivencia va a depender fundamentalmente de la estación y de la edad de los individuos, y que la probabilidad de captura es prácticamente constante, teniendo la edad y la estación un efecto muy leve sobre la misma.

Modelización de la probabilidad de captura (P) y de recaptura (C) dentro de cada sesión primaria

Los análisis realizados por el programa CAPTURE revelaron que en cinco de las siete sesiones primarias de muestreo el modelo elegido es inequívocamente el modelo nulo. Sólo en las dos primeras sesiones el modelo nulo no es la primera elección en función de los datos de capturas y recapturas, pero aún así la probabilidad de que el M(o) sea el correcto es muy elevada en ambos casos ($p = 0.96$ y 0.87 , respectivamente) (c.f. Tabla 3-2). Asumimos, pues, que en todos los casos los datos de capturas y recapturas se ajustan al modelo nulo. Este modelo implica que la probabilidad de capturar (o recapturar) un animal no varía individualmente, ni comportamentalmente, ni temporalmente. La notación tradicional seguida por Otis *et al.* (1978) para referirse al modelo nulo como M(o), se corresponde con la notación de Lebreton *et al.* (1992), $[P(.) = C(.)]$, seguida en MARK (Cooch y White 2007).

Este estudio preliminar nos ha permitido conocer que, dentro de cada sesión primaria, la probabilidad de captura es igual que la probabilidad de recaptura, y que ambas son constantes, como indica la expresión $[P(.) = C(.)]$.

Sesión	M(o)	M(h)	M(b)	M(bh)	M(t)	M(th)	M(tb)	M(tbh)
1	0.96	0.79	0.57	0.97	0	0.68	0.46	1
2	0.87	0.71	0.59	0.97	0	0.67	0.43	1
3	1	0.81	0.4	0.7	0	0.45	0.33	0.73
4	1	0.81	0.3	0.58	0	0.41	0.28	0.64
5	1	0.78	0.31	0.6	0	0.37	0.29	0.63
6	1	0.82	0.31	0.59	0	0.36	0.29	0.66
7	1	0.84	0.53	0.84	0	0.53	0.41	0.84

Tabla 3-2.- Probabilidad de cada modelo de heterogeneidad para el análisis de la tasa de captura (P) y de recaptura (C) dentro de cada sesión primaria de muestreo, calculada en el programa CAPTURE. Las abreviaciones M(o), M(h), M(b) y M(t) significan: modelo nulo, modelo con heterogeneidad individual, modelo con heterogeneidad comportamental y modelo con heterogeneidad temporal en las tasas de captura. Los modelos M(bh), M(th), M(tb) y M(tbh) son combinaciones de dos (o las tres) fuentes de heterogeneidad anteriormente referidas.

Modelización de la tasa de emigración (γ'') e inmigración ($1 - \gamma'$) temporal

La probabilidad de emigrar temporalmente fuera del área de trampeo (γ'') y la probabilidad de permanecer fuera de la misma (γ') entre sesiones se modeló a través del diseño robusto en MARK bajo los cuatro modelos de emigración descritos en la metodología: emigración aleatoria, de tipo Markov, constante o “ausente” (i.e. no emigración).

Para modelar las *gammas* (γ) mantuvimos fijo el resto de los parámetros del modelo robusto (S, P y C). A partir del estudio de los muestreos primarios en el módulo “Recaptures only”, sabemos que en cuatro de los cinco modelos candidatos la supervivencia varía de una u otra manera en función de la estación -es decir: S(ss) -; y que en tres de los cinco, la probabilidad de captura es constante entre sesiones - P'(.). Por otro lado, el estudio preliminar con CAPTURE nos ha indicado que las probabilidades de captura y recaptura son homogéneas dentro de cada sesión, con lo que P(.)=C(.), y a su vez = P'(.). Los parámetros γ'' y γ' se han modelado, pues, como parte de un modelo cuya estructura hemos considerado apropiado fijar como: S(ss) P(.)=C(.). En la selección del modelo general de emigración no hemos tenido en cuenta el sexo ni la edad de los individuos, sino que hemos considerado un único grupo homogéneo.

La selección del modelo de emigración que más se ajusta a los datos se realizó en base al valor del AIC. Este criterio señaló al modelo_1 de la Tabla 3-3 como el mejor modelo. Cualquier otro modelo de emigración presentó una probabilidad de ser el más adecuado menor del 5% (i.e. model likelihood < 0.05). Este modelo implica que las *gammas* son iguales entre sí y constantes: [$\gamma''(.) = \gamma'(.)$]. Hablamos por tanto de una única *gamma* (γ), que se interpreta como la probabilidad de que un animal esté temporalmente no disponible para su captura en el área de trampeo (i.e. que haya emigrado temporalmente), independientemente de si en el muestreo anterior estaba disponible o no.

Modelo	AICc	Δ AICc	AICc weight	Model Likelihood	K	Deviance
1 S(ss) P(.)=C(.) G(.)	532.41	0.00	0.48	1.00	5	391.24
2 S(ss) P(.)=C(.) G(Random)	539.09	6.68	0.02	0.04	9	389.37
3 S(ss) P(.)=C(.) G(Markov)	539.97	7.56	0.01	0.02	13	381.37
4 S(ss) P(.)=C(.) G(no emigration)	541.36	8.95	0.01	0.01	4	402.28

Tabla 3-3.- Selección del modelo de emigración de la población de estudio entre sesiones primarias, bajo el diseño robusto. Se compara el ajuste de cuatro modelos de emigración: aleatoria, de tipo Markov, constante (.) y no emigración. Los modelos están ordenados en orden ascendente de AICc. AICc = Criterio de información de Akaike corregido para muestras de pequeño tamaño. Δ AICc = diferencia en el AIC con respecto al modelo con menor AIC. AICc weight = valor normalizado del AICc. Model likelihood = probabilidad de ser el modelo más adecuado K = número de parámetros. La “G” = representa las “*gammas*”: γ'' (probabilidad de emigrar fuera del área trampeada) y γ' (probabilidad de permanecer fuera del área trampeada).

Una vez hemos conocido cual es el modelo de emigración que más se ajusta a nuestros datos, lo hemos utilizado para, ahora sí, modelar el parámetro γ en función del sexo y de la edad de los individuos, así como para testar diferencias entre los mismos. Así hemos construidos los modelos de la Tabla 3-4, donde se puede observar que los dos primeros modelos son los más competentes, tanto por los valores de AIC, como por los de probabilidad (model likelihood). En este caso seleccionaríamos el modelo número_2, pues la diferencia en el AIC con el modelo superior es sólo de 0.27 más y tiene un parámetro menos, lo que nos indica que añadir ese parámetro en el modelo_1 sólo lo hizo más

complejo, pero realmente no mejoró el ajuste. El modelo_2 es, pues, más parsimonioso y postula que *gamma* (= probabilidad de emigración temporal) es homogénea para toda la población, sin diferencias entre sexos o edades.

	Modelo: S(ss) P(.)=C(.) G(.)	AICc	Δ AICc	AICc weight	Model Likelihood	K	Deviance
1	G jóvenes \neq G adultos	532.15	0.00	0.31	1.00	6	379.74
2	G (ie. G" = G')	532.41	0.27	0.27	0.88	5	382.12
3	G hembras \neq G machos	534.32	2.17	0.11	0.34	6	381.91

Tabla 3-4.- Modelización del parámetro γ (-gamma-) en función de los factores edad y sexo, bajo el modelo S(ss) P(.)=C(.) G(.). Los modelos están ordenados en orden ascendente de AICc. AICc = Criterio de información de Akaike corregido para muestras de pequeño tamaño. Δ AICc = diferencia en el AIC con respecto al modelo con menor AIC. AICc weight = valor normalizado del AICc. Model likelihood = probabilidad de ser el modelo más adecuado K = número de parámetros.

3.2. ESTIMAS DE LOS PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS A PARTIR DEL MODELO CONSTRUIDO

El trabajo realizado hasta ahora nos ha permitido conocer, o al menos acercarnos a la estructura de cada uno de los parámetros implicados en el diseño robusto y los factores de los que cada parámetro depende. Nos queda volver a modelar S y P en conjunto con el resto de los parámetros en el diseño robusto, y resolver la incertidumbre sobre cual de los cinco modelos preseleccionados en el módulo “Recaptures only” para S y P’ es el más adecuado. En la Tabla 3-5 observamos que esta incertidumbre se mantiene, pues el valor de Δ AICc < 7 , y la probabilidad es mayor del 10% en todos los modelos (Burnham y Anderson 2002). Por tanto no podemos seleccionar un único modelo para explicar la variabilidad observada en los datos, sino que tenemos que considerar los cinco modelos para calcular las estimas de los parámetros demográficos. Lo que tenemos que hacer por tanto, es la media de los modelos (model averaging), cogiendo las estimas de cada uno de ellos y ponderándolas teniendo en cuenta el peso relativo del ajuste de cada modelo a los datos. Es decir, tenemos que tener en cuenta los valores normalizados del AICc (normalized AICc weights) (Cooch y White 2007). Siguiendo esta aproximación, las estimas ponderadas de la tasa de supervivencia y de la probabilidad de captura y recaptura

contemplantán la variación estacional y entre edades, en la medida de la importancia de estos factores (Tabla 3-6).

	Modelo			AICc	$\Delta AICc$	AICc weight	Model Likelihood	K	Deviance
1	S(ss)	G=(.)	P=C=(.)	532.41	0.00	0.42	1.00	5	382.29
2	S(ss+a)	G=(.)	P=C=(.)	533.25	0.84	0.28	0.66	6	381.02
3	S(ss+a)	G=(.)	P=C=(a)	534.05	1.64	0.18	0.44	7	379.69
4	S(a)	G=(.)	P=C=(.)	536.01	3.60	0.07	0.17	4	387.98
5	S(ss)	G=(.)	P=C=(ss)	536.62	4.21	0.05	0.12	7	382.26

Tabla 3-5.- Modelos candidatos para explicar la variabilidad observada de los datos, bajo el diseño robusto. Los modelos incluyen los siguientes parámetros: probabilidad de supervivencia (S), probabilidad de no estar disponible en el área de trampeo (ie. emigración temporal) (G), probabilidad de captura (P) y de recaptura (C). Se tienen en cuenta los factores: edad (a) y estación (ss) .Los modelos están ordenados en orden ascendente de AICc. AICc = Criterio de información de Akaike corregido para muestras de pequeño tamaño. $\Delta AICc$ = diferencia en el AIC con respecto al modelo con menor AIC. AICc weight = valor normalizado del AICc. Model likelihood = probabilidad de ser el modelo más adecuado K = número de parámetros.

			(valores ponderados)	
			Media \pm e.s.	Intv. Confianza 95%
S	Adultos	Otoño - primavera	0.91 \pm 0.04	0.75 - 0.97
		Primavera - verano	0.84 \pm 0.07	0.66 - 0.94
		Verano - otoño	0.69 \pm 0.07	0.52 - 0.82
	Jóvenes	Otoño - primavera	0.94 \pm 0.02	0.87 - 0.97
		Primavera - verano	0.88 \pm 0.06	0.67 - 0.96
		Verano - otoño	0.75 \pm 0.07	0.54 - 0.88
$\gamma'' = \gamma'$			0.21 \pm 0.09	0.08 - 0.44
P=C	Adultos	Otoño - primavera	0.70 \pm 0.03	0.62 - 0.77
		Primavera - verano	0.70 \pm 0.03	0.61 - 0.77
		Verano - otoño	0.70 \pm 0.03	0.61 - 0.77
	Jóvenes	Otoño - primavera	0.69 \pm 0.03	0.62 - 0.74
		Primavera - verano	0.69 \pm 0.03	0.62 - 0.75
		Verano - otoño	0.68 \pm 0.03	0.62 - 0.74

Tabla 3-6.- Estimaciones ponderadas (media \pm error estándar, e intervalo de confianza del 95%) de los parámetros demográficos de la colonia de Peñalara, obtenidas a partir de los cinco modelos candidatos recogidos en la Tabla 3-5: S (probabilidad de supervivencia –mensual- entre sesiones), P=C (probabilidad de captura y de recaptura), G = ($\gamma'' = \gamma'$) (probabilidad de emigrar y de seguir fuera del área de trampeo entre sesiones, respectivamente).

La supervivencia aparente (S)

Puesto que los intervalos de tiempo entre periodos de muestreo los hemos referido al “mes” como unidad de tiempo (c.f. sección 2.3.1.), los valores para las tasas de supervivencia (S) que la Tabla 3-6 presenta se refieren a la probabilidad de que un individuo sobreviva de un mes a otro (es decir, son *monthly survival rates*). Para conocer la probabilidad de que un individuo sobreviva de una estación a otra (*seasonal survival rate*) hay que multiplicar el valor de supervivencia mensual por sí mismo tantas veces como meses tenga el intervalo de tiempo a lo largo del cual queremos conocer la supervivencia (Cooch y White 2007). El número medio de meses que transcurren entre los muestreos de otoño y primavera son 8, entre primavera y verano 2.45, y entre verano y otoño 1.9. Tomando estos valores como exponentes de los valores mensuales de supervivencia para cada estación tenemos que:

		S mensual		S estacional
Adultos	Otoño - primavera	0.91 ⁸	=	0.47
	Primavera - verano	0.84 ^{2.45}	=	0.65
	Verano - otoño	0.69 ^{1.9}	=	0.49
Jóvenes	Otoño - primavera	0.94 ⁸	=	0.61
	Primavera - verano	0.88 ^{2.45}	=	0.73
	Verano - otoño	0.75 ^{1.9}	=	0.53

Tabla 3-7.- Probabilidad de supervivencia mensual y estacional por edades y estaciones para para el topillo nival en Peñalara. Los exponentes corresponden al número de meses transcurridos entre los muestreos de otoño a primavera, de primavera a verano y de verano a otoño.

Esta corrección por el número de meses de cada estación hace que las diferencias en la supervivencia entre clases de edad sean más notables, teniendo los jóvenes una probabilidad de supervivencia mayor que los adultos en todos los periodos. La mayor diferencia entre las clases de edad se produce en la supervivencia de otoño a primavera, teniendo los jóvenes un 14% más de probabilidad de sobrevivir el invierno que los adultos. De primavera a verano es cuando ambas clases de edad tienen una supervivencia mayor (Tabla 3-7).

La emigración temporal (γ'' y γ')

El diseño robusto exige la incorporación de los parámetros γ'' y γ' en los modelos. Sin embargo, nuestro interés principal es la determinación del número de individuos en la población y sus tasas de supervivencia aparente, y por ello estos parámetros fueron modelados en primer lugar, y se fijó su estructura dejando a los datos poca “habilidad y flexibilidad” para estimar los parámetros restantes (γ'' y γ'). Es decir, las *gammas* se modelaron al final, y no como un parámetro prioritario, con lo que las estimas deben considerarse con cautela. El mejor modelo para las *gammas* no implicó ninguno de los tres tipos clásicos de emigración (aleatoria, de Markov y no emigración), sino que resultó ser el modelo en el que γ'' y γ' se consideraron iguales entre sí y constantes entre sesiones (Tabla 3-3). La selección de este modelo pudo ser debida simplemente a que es el que exige el cálculo de un menor número de parámetros (sólo uno más, una única γ), para lo que nuestros datos aún pudieron dar de sí, frente a los otros modelos más complejos. Teniendo en mente todos estos aspectos con los que manifestamos nuestra incertidumbre sobre la modelización realizada de las *gammas*, los modelos apuntan a que la emigración temporal y la inmigración son iguales entre sí y para todos los grupos poblacionales (hembras, machos, jóvenes y adultos), y constantes en el tiempo (Tabla 3-4). La probabilidad de que un animal abandone temporalmente el área de muestreo es muy baja ($\gamma = 0.21$) (Tabla 3-6), indicando que se trata de una población prácticamente cerrada a la salida y entrada de animales.

Las probabilidades de captura y de recaptura (P y C)

Las probabilidades de captura y recaptura de la Tabla 3-6, se interpretan como que la probabilidad de capturar un individuo en una ocasión secundaria dado que está disponible para su captura en el área de estudio es de un 69-70%; y de que sea recapturado en otra ocasión dentro del mismo periodo primario de muestreo es de otro 69-70%. Con un valor medio de 0.69 y tres días (u ocasiones secundarias) en cada sesión primaria tenemos que $0.69 \times 0.69 \times 0.69 = 0.33$, es la probabilidad de capturar un animal en las tres ocasiones de una sesión primaria. La probabilidad de no capturar un animal en absoluto (estando disponible en el área de estudio) en ninguna de las ocasiones de una sesión primaria sería

$(1-0.69)^3 = 0.03$; y la probabilidad de capturarlo al menos en una ocasión a largo de una sesión primaria sería del 97% ($1-0.03 = 0.97$). Es decir, estamos capturando prácticamente el 100% de la población.

El tamaño poblacional (N)

Como hemos mencionado anteriormente, el tamaño poblacional (N) se estimó mediante el método de Huggins a partir de la probabilidad de captura. Los datos de partida son demasiado dispersos como para proporcionar buenas estimas del número de individuos en cada periodo de muestreo para cada uno de los cuatro grupos de interés originalmente propuestos (recordar, 2 sexos * 2 clases de edad), por lo que consideramos más apropiado limitar los grupos de interés y, de entrada, nos centramos en calcular el tamaño de la población de forma global, para cada sesión de muestreo (Tabla 3-7). Posteriormente realizamos un análisis independiente para calcular el número de hembras y machos (Tabla 3-8), y el número de jóvenes y adultos para periodo.

N	Sesión		N ± e.s.	Intv. Confianza 95%
	1	Sept_04	7.22 ± 0.48	7.02 - 9.93
	2	Jun_05	10.31 ± 0.57	10.03 - 13.38
	3	Ago_05	16.50 ± 0.73	16.06 - 20.06
	4	Oct_06	13.40 ± 0.66	13.04 - 16.74
	5	Jun_06	20.62 ± 0.82	20.09 - 24.45
	6	Ago_06	19.59 ± 0.80	19.08 - 23.36
	7	Oct_06	22.68 ± 0.86	22.10 - 26.63

Tabla 3-7.- Abundancia poblacional estimada, en cada una de las sesiones primarias, en la colonia de seguimiento de Peñalara. Se muestran las Ns con el error estándar e intervalo de confianza del 95% calculadas mediante el estimador de Huggins a partir del modelo robusto $[S(ss) P(.)=C(.) \gamma'(.)=\gamma'(.)]$ en el programa MARK.

N	SEXO	Sesión	N ± e.s.	Intv. Confianza 95%
	Hembras	1	3.09 ± 0.31	3.00 - 5.06
		2	6.19 ± 0.44	6.01 - 8.76
		3	9.28 ± 0.54	9.02 - 12.24
		4	7.22 ± 0.48	7.02 - 9.93
		5	8.25 ± 0.51	8.02 - 11.09
		6	7.22 ± 0.48	7.02 - 9.93
		7	10.31 ± 0.57	10.03 - 13.38
	Machos	1	4.12 ± 0.36	4.01 - 6.33
		2	4.12 ± 0.36	4.01 - 6.33
		3	7.22 ± 0.48	7.02 - 9.93
		4	6.19 ± 0.44	6.01 - 8.76
		5	12.37 ± 0.63	12.04 - 15.63
		6	12.37 ± 0.63	12.04 - 15.63
		7	12.37 ± 0.63	12.04 - 15.63

Tabla 3-8.- Número de hembras y machos de topillo nival, estimados mediante el estimador de Huggins a partir del modelo robusto $[S(ss) P(.)=C(.) \gamma'(.)=\gamma'(.)]$ con el programa MARK. Se muestra la N estimada para cada clase en cada una de las sesiones primarias de captura en la colonia de seguimiento de Peñalara, con el error estándar e intervalo de confianza del 95%.

Sin embargo, nos encontramos con que el cálculo estimativo del número de individuos por clases de edad en cada periodo presentó una gran dificultad técnica, pues aquellos animales que entran en la población por primera vez como juveniles, han de pasar a la siguiente clase de edad (adultos) en los muestreos subsiguientes. Según hemos expuesto anteriormente, el estimador de Huggins se basa en los valores estimados de las probabilidades de captura (P) para calcular el tamaño poblacional. Es decir, que para que la graduación en edad de los animales se refleje en el tamaño poblacional para cada periodo (N), las probabilidades de captura y recaptura han de contemplar este cambio también, de forma que los jóvenes tengan un valor de P, y cuando pasen a ser adultos, tengan otro valor de P. Una graduación de este tipo la hemos realizado, por ejemplo, con la probabilidad de supervivencia (S), sin embargo, el programa MARK no ofrece la posibilidad de codificar las P para que gradúen de la forma deseada en el modelo robusto, según la estructura de nuestros datos. Nos encontramos pues antes una limitación técnica cuya solución implicaría rehacer todos los modelos considerando ocho grupos de edad: adultos, jóvenes que entran a la población en el periodo de muestreo 1, los que entran en el 2, los que entran

en el 3, etc... hasta el 7 (White, G. pers. comm.). Además de unas matrices extremadamente complejas, nos encontraríamos con que otra vez hemos aumentado el número de grupos, y por tanto el número de parámetros a calcular, lo que nuevamente se traduciría en que muchos de los parámetros no podrían ser estimados, y otros serían estimados con mucho error, pues nuestra base de datos sigue siendo igual de limitada. La conclusión es que el modelo obtenido no nos permite estimar el número de jóvenes y adultos que componen la población en cada periodo.

Volviendo a la abundancia total, y a la abundancia por sexos en cada periodo, se puede comprobar la clara correspondencia, prácticamente coincidente al 100%, entre el número de animales estimados por el modelo y el número de animales capturados (Figuras 3-4 y 3-5, respectivamente). Los altos valores obtenidos para las probabilidades de captura y recaptura (P y C) que, según hemos explicado anteriormente, son indicativos de que en realidad estamos capturando el 97% de la población en cada periodo de tres noches de muestreo, hacen que este resultado sea esperable.

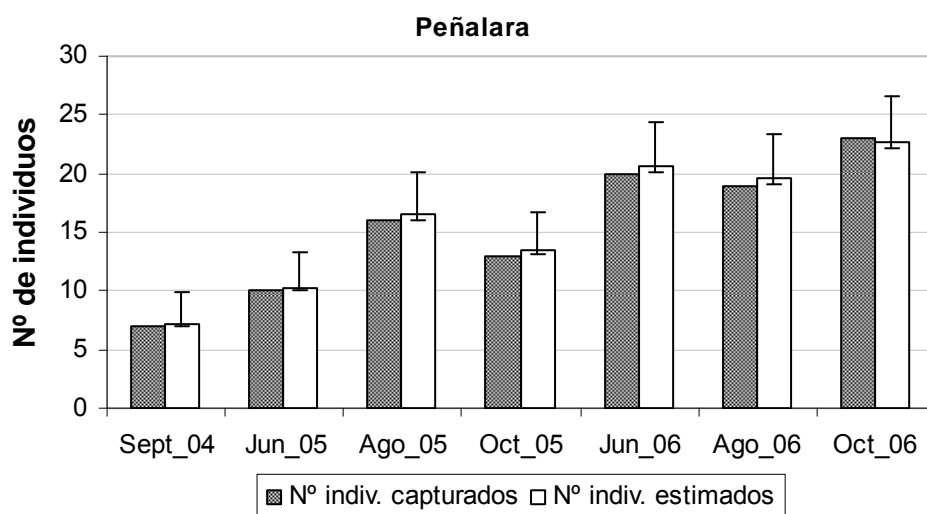


Figura 3-4.- Número de individuos distintos capturados y abundancia poblacional estimada ($N \pm C.I. 95\%$) por el modelo mediante el estimador de Huggins para poblaciones cerradas.

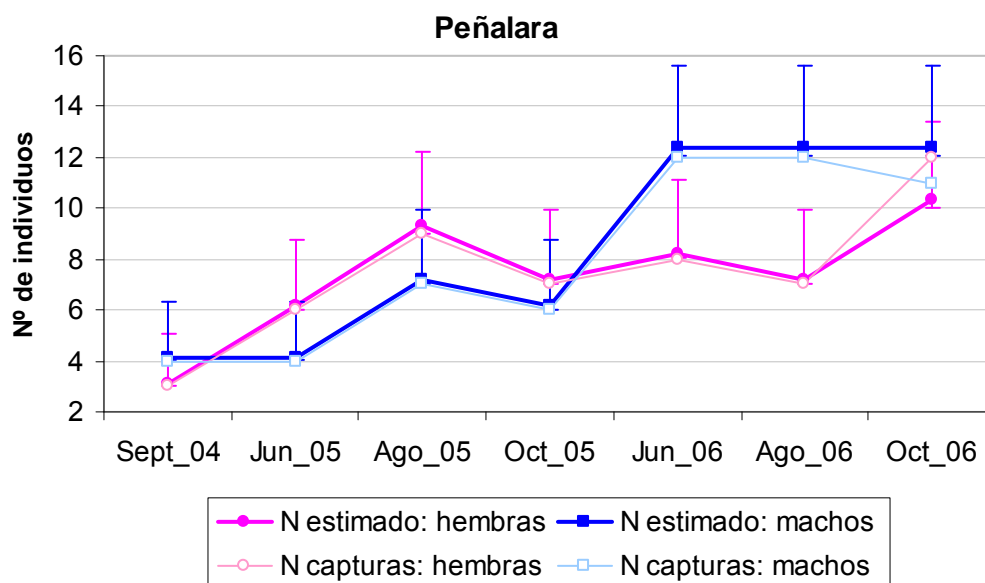


Figura 3-5.- Número de hembras y machos capturados en la colonia de Peñalara y número de individuos estimado ($N \pm \text{C.I. } 95\%$) mediante el estimador de Huggins para cada sesión primaria.

3.3. DENSIDAD POBLACIONAL

Una cuestión fundamental para que las estimas de abundancia poblacional (N) del apartado anterior tengan un valor comparativo es conocer el área a la cual van referidas. Es decir, hay que pasar de abundancia a densidades. Para ello primero necesitamos determinar el *área efectiva* muestreada que generalmente se calcula como la superficie ocupada por la malla de trapeo (A), más una banda circundante adicional, de ancho desconocido (W) y de la que pueden provenir algunos de los animales capturados, bien atraídos por el cebo de las trampas, o bien porque una parte marginal del área de campeo del animal está incluida en la superficie muestreada, aunque la mayor parte de la misma quede fuera (Wilson y Anderson 1985). Estas dos circunstancias dan lugar al denominado “efecto borde”, que produce sobreestimas de la densidad pues el área trapeada es realmente menor que el área efectiva de muestreo. El “efecto borde” se corrige ajustando el área de trapeo en base a la capacidad de desplazamiento de los animales para determinar la distancia máxima desde la cual los animales de fuera de la malla de trapeo están siendo, efectivamente, capturados en las trampas. Existen varios métodos para estimar el ancho de banda

adecuado (W): basado en la distancia entre trampas, en el tamaño de las áreas de campeo, en el desplazamiento medio de los animales entre trampas, en la distancia media máxima entre recapturas, etc... En este estudio utilizamos la distancia media máxima (MMDM) entre recapturas en cada periodo para ajustar el ancho de la banda periférica, pues se ha comprobado que es el método que produce las estimas de densidad más precisas en micromamíferos (Parmenter *et al.* 2003). El área efectiva muestreada se calcula pues, añadiendo la distancia media máxima a cada lado de la malla de trampeo.

Los valores de densidad poblacional así calculados para cada periodo y para cada localidad se presentan en la Tabla 3-9. También se presentan los valores de densidad sin corrección del efecto borde (*naive density*, simplemente $D = N/A$) para comparaciones con estudios previos en los que, a menudo, esta corrección no es tomada en cuenta. Además de las densidades para Peñalara, calculadas a partir del tamaño poblacional para cada periodo estimado por el modelo, hemos incluido en esta tabla los valores de densidad calculados para S.Nevada, para poder comparar entre poblaciones. Como sabemos, el tamaño muestral de la colonia de S.Nevada es tan bajo que los modelos para la estima del número de individuos en poblaciones cerradas dan error de ejecución. En estas circunstancias la estima del tamaño poblacional se hace en base al número mínimo de animales vivos (MNA = minimum number of animals known to be alive) (Krebs 1966). Los valores de densidad de S.Nevada están pues calculados en base al número de capturas, recogido en el capítulo anterior.

La densidad corregida en la colonia de Peñalara osciló entre 19 y 35 indiv/ha, si exceptuamos el periodo de septiembre-04, con una densidad de 6.5 indiv/ha, debido al reducido número de trampas (15 en vez de 60) empleado en ese muestreo. Asimismo, descartando este periodo, la densidad *naive* osciló entre 35 y 78 indiv/ha. Por su parte, las densidades corregidas calculadas para la población de S.Nevada oscilan entre los 1.8 y los 6.7 indiv/ha, mientras que los valores corregidos se elevan de 5.4 a 19.6 indiv/ha.

Tanto los valores de densidad corregidos por la adición de una banda de ancho W, como los valores de “*naive density*” fueron en torno a seis veces superiores en la colonia de Peñalara que en la de S.Nevada (Densidad corregida (media \pm s.d.): Peñalara = $23.5 \pm$

9.2 indiv/ha; S.Nevada = 3.7 ± 6.3 indiv/ha; Mann-Whitney U Test = 2; $p = 0.007$. Naive density (media \pm s.d.): Peñalara = 54.3 ± 19.7 indiv/ha; S.Nevada = 9.3 ± 6.7 indiv/ha; Mann-Whitney U Test = 0; $p = 0.002$). La distancia media máxima entre recapturas fue mayor en S.Nevada (45.0 ± 23.8 m) que en Peñalara (29.0 ± 0.2 m), aunque la diferencia no fue significativa (Mann-Whitney U Test = 17; $p = 0.14$).

		Abundancia (indiv)	Ancho banda W (m)	Area efectiva (ha)	Densidad con W (indiv/ha)	Densidad <i>naïve</i> (indiv/ha)
P E Ñ A L A R A	Sept_04	7.22	50.00	1.10	6.55	24.89
	Jun_05	10.31	18.31	0.54	19.18	35.55
	Ago_05	16.50	22.40	0.60	27.54	56.89
	Oct_05	13.40	26.59	0.67	20.13	46.22
	Jun_06	20.62	30.96	0.74	27.91	71.11
	Ago_06	19.59	29.37	0.71	27.52	67.55
	Oct_06	22.68	25.00	0.64	35.44	78.22
S . N E V A D A	May_04	7	27.00	1.04	6.73	12.50
	Ago_04	11	91.50	2.77	3.97	19.64
	Nov_04	7	26.75	1.04	6.76	12.50
	May_05	4	46.67	1.48	2.70	7.14
	Ago_05	4	49.75	1.56	2.57	7.14
	Oct_05	3	40.00	1.32	2.27	5.36
	Jun_06	4	72.00	2.16	1.85	7.14
	Ago_06	4	36.00	1.23	3.25	7.14
	Oct_06	3	15.50	0.82	3.66	5.36

Tabla 3-9.- Abundancia poblacional (estimada mediante el método de Huggins, para Peñalara y como número de individuos conocidos vivos, en S.Nevada), ancho de banda periférica (W) calculada como la distancia media máxima entre recapturas (MMDM), área efectiva de muestreo (calculada como función del ancho de banda periférica), densidad poblacional con W (calculada como abundancia/área efectiva de muestreo), y densidad *naïve* (calculada como abundancia/área trampeada). Área trampeada para Peñalara = 0.29ha, para S.Nevada= 0.56ha. Las variables se dan para cada sesión de muestreo en cada localidad.

4. DISCUSIÓN

En este apartado comentamos los valores obtenidos para los parámetros poblacionales dentro del contexto biológico de la especie. Asimismo discutimos los valores de densidad obtenidos en relación con las densidades conocidas para la especie en otras localidades. Para concluir, discutimos la posición del topillo nival dentro del continuo de las estrategias de reproducción *r*- y *K*-.

4.1. LOS PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS

Las tendencias demográficas opuestas entre jóvenes y adultos, evidenciadas a partir de las capturas y las recapturas en el campo (con referencia a la “estructura de edad” y su evolución temporal esquematizada en la Figura 2-7 del capítulo anterior), tienen un paralelismo claro con las estimas de las **tasas de supervivencia** específicas por edad, obtenidas a partir de la modelización de los datos. Estas tasas indican que en los tres intervalos estacionales (periodo de otoño a primavera, de primavera a verano y de verano a otoño), los jóvenes tienen una supervivencia mayor que los adultos (Tabla 3-7), lo que se traduce en que al final del año (otoño-invierno) la población está constituida básicamente por jóvenes. Este ciclo general, en el que la población en primavera parte de adultos reproductores y la proporción de juveniles va aumentando a lo largo de la temporada estival ya ha sido puesto de manifiesto desde antaño (Le Louran y Janeau 1975; Bocchini y Nieder 1994; Locatelli y Paolucci 1999; Luque-Larena y Gosálbez 2002). Sin embargo, estas mismas citas indican que los adultos del año anterior mueren a lo largo de su segundo invierno de vida para dejar paso a la siguiente generación reproductora. De nuevo, las tasas de supervivencia estacional obtenidas en este estudio nos indican que la muerte de los adultos no se produce exclusivamente en invierno (intervalo de otoño a primavera) sino que a lo largo de la primavera y del verano, también hay mortalidad de adultos. De modo que al llegar el otoño, ya quedan muy pocos adultos. Esto puede explicar el alto valor obtenido, y en principio no esperado, para la tasa de supervivencia de los adultos de otoño a primavera, pues uniendo los datos de los intervalos de 2004-2005 y 2005-2006 para los que se ha calculado esta tasa, únicamente tres adultos han sido capturados en otoño (el resto de los individuos eran jóvenes). De estos tres, uno de ellos (el individuo N4) sobrevivió hasta la siguiente primavera, lo que produce una tasa de supervivencia invernal para los adultos anormalmente elevada, cuando en realidad es un artefacto debido al escaso número de adultos que llegan hasta el otoño, de lo que se concluye que prácticamente sólo son los jóvenes del año los que sobreviven al invierno.

Desconocemos los valores que tendrán las **tasas de captura y recaptura** de los topillos nivales, y los factores de los que dependen en otras localidades, pues la bibliografía no aporta información al respecto. La modelización de los datos efectuada en este estudio nos ha llevado a que, en Peñalara, las probabilidades de captura y de recaptura en cada ocasión secundaria dentro de una sesión de muestreo presentan valores relativamente altos, en torno al 70% ($P=C \sim 0.69$), y son prácticamente constantes a lo largo de las estaciones, el sexo y la edad (Tabla 3-6). Con estas probabilidades de captura, y un diseño muestral como el seguido en este estudio, tenemos que la probabilidad de no capturar a un animal en ninguna de las tres noches de duración de cada periodo de muestreo estando éste presente en el área trampeada y disponible para su captura es de sólo 0.03 $[(1-0.69)^3]$, donde el exponente 3 corresponde con el número de sesiones secundarias en cada sesión primaria de trampeo] (Cooch y White 2007). Este valor nos está indicando que prácticamente estamos capturando todos los animales presentes en el área de estudio en cada sesión primaria de muestreo (el 97%), como refleja el perfecto ajuste entre el número de capturas y las estimas de abundancia poblacional total y por sexos (Figuras 3-4 y 3-4). De hecho, este resultado se convierte en una de las principales conclusiones de este trabajo, y es que manteniendo una intensidad de muestreo como la que hemos aplicado en este estudio, podemos asumir que el número de neverones capturados representa la abundancia total de la población contenida en la malla de trampeo, en la localidad de Peñalara.

Por otro lado, estos altos valores para la tasa de captura nos permiten asumir que el animal que no se coge en una sesión de muestreo, es porque ha muerto o no está disponible, es decir, porque ha emigrado temporalmente y no porque haya “esquivado” el muestreo. De las 64 historias de captura registradas a lo largo del estudio únicamente hay tres casos de emigración temporal, en los que los animales han abandonado el área de trampeo durante una o dos sesiones para retornar posteriormente a la misma. Estos tres casos de **emigración temporal** nos ayudan a comprender de dónde procede el valor de 0.21 estimado para *gamma* (γ = probabilidad de que un animal no esté disponible en el área de muestreo). Los tres eventos de emigración temporal corresponden a machos adultos (N1, N19 y N26, cuyo historial de captura se puede ver en el calendario de capturas de la Tabla 2-9 del capítulo anterior).

Poco se sabe de los movimientos dispersivos de los topillos nivales, aunque por lo general se cree que su capacidad dispersiva y de colonización es reducida (Bocchini y Nieder 1994). No obstante, y como hemos reflejado en la metodología de campo, en Sierra Nevada hemos detectado dos desplazamientos entre canchales vecinos de 100 y 180m respectivamente entre capturas consecutivas, dentro de una misma sesión primaria. Ambos desplazamientos han sido protagonizados por machos adultos y escrotados. Le Louran y Janeau (1975) también apuntan a que la emigración es más fuerte en machos. En cualquier caso, parece que los movimientos entre colonias vecinas son escasos, y que el balance neto entre emigración e inmigración tiende a compensarse (Janeau y Aulagnier 1997).

4.2. DENSIDAD POBLACIONAL EN LAS COLONIAS DE NEVERONES

Diversas especies de topillos (como por ejemplo, *Microtus agrestis*, *Clethrionomys rufocanus*, *C.glareolus*) y lemmings, en sus áreas de distribución del norte de Europa, tundra ártica y/o Alaska presentan fluctuaciones demográficas de gran magnitud, con explosiones y reducciones drásticas en el número de efectivos que se suelen repetir cada 3-4 años (Krebs 1996; Hörnfeldt 2004). A diferencia de estos microtinos, el topillo nival no es una especie cíclica, sino que presenta unas densidades poblacionales relativamente bajas y estables a lo largo de todo el año, con leves oscilaciones estacionales en el número de individuos (Krapp 1982; Leconte 1983; Janeau y Aulagnier 1997; Yoccoz y Ims 1999; Luque-Larena y Gosálbez 2002).

Las **densidades poblacionales** observadas presentan una abrumadora diferencia entre nuestras poblaciones de estudio, de modo que tanto la densidad *naïve* como la corregida son entorno a seis veces superiores en Peñalara que en S.Nevada, mientras que la distancia media máxima recorrida entre recapturas es mayor en S.Nevada. Estas observaciones apuntan en la misma dirección que las del capítulo anterior, sugiriendo que Peñalara proporciona mejores condiciones para los neverones en términos de: recursos (alimenticios/ pareja...), depredación, etc... permitiéndoles alcanzar mayores densidades poblacionales. Por el contrario, en S.Nevada, estos recursos serían más dispersos y escasos,

limitando la densidad poblacional de topillos y obligándolos a recorrer mayores distancias para satisfacer sus requerimientos; donde además la depredación parece un factor más acuciante que en Peñalara.

En comparación con otras localidades, los datos de densidad poblacional que hemos obtenido concuerdan con la tendencia general observada por otros autores en sus áreas de estudio de *C.nivalis* (Figura 3-10), de modo que la densidad poblacional presenta una oscilación anual leve, siendo algo menor a principios de primavera para aumentar moderadamente según progresa el verano hasta principios del otoño, dando un balance positivo entre el nacimiento de las crías y la muerte de los adultos. Las muertes que se producen durante el invierno vuelven a reestablecer los valores de partida en la primavera siguiente (Le Louran y Janeau 1975; Bocchini y Nieder 1994; Locatelli y Paolucci 1999; Luque-Larena y Gosálbez 2002).

	Estación	Densidad <i>naïve</i>	Densidad corregida	Referencia
Peñalara	primavera	53	24	Datos propios
	verano_otoño	62	28	
S.Nevada	primavera	7	4	Datos propios
	verano_otoño	10	4	
Apeninos	primavera	5-10	-	Bocchini y Nieder 1994
	verano_otoño	20-40	-	
Alpes Orientales	primavera	4	-	Locatelli y Paolucci 1999
	verano_otoño	8	-	
Alpes_Dept. Savoie	primavera	5-10	-	Yoccoz e Ims 1999
	verano_otoño	10-20	-	
Alpes_Hautes Alpes	primavera	35	-	Le Louran y Janeau 1975
	verano_otoño	95	-	

Tabla 3-10.- Tabla comparativa de la densidad poblacional observada (indiv/ha) al principio y al final de la época reproductiva en poblaciones de topillo nival de diversas localidades. Puesto que en las referencias citadas no se especifica el cálculo de las densidades, asumimos que se trata de densidades *naïve*, no corregidas por el efecto de borde.

La Tabla 3-10 establece una comparativa de los valores de densidad de varias poblaciones de topillo nival, incluidos los datos de este estudio. Tenemos aquí que decir, que a falta de indicación específica sobre los cálculos de las densidades realizadas por otros autores, asumimos que se trata de densidades *naïve*, no corregidas por el efecto de borde, y como tales, las compararemos con nuestras densidades *naïve*. Si bien podemos

observar que los valores de densidad (*naive*) de nuestras localidades de estudio entran dentro de los rangos de densidad conocidos para otras poblaciones de neverones, esta comparativa más amplia, sitúa a la población de S.Nevada próxima a las densidades mínimas registradas para la especie, de modo que su baja densidad poblacional destaca no sólo frente a Peñalara sino también en un contexto europeo. Por el contrario, las densidades de Peñalara están próximas a las máximas registradas, entrando dentro de los rangos observados en la población de los Altos Alpes, que es la que presenta la densidad máxima absoluta registrada, al final del periodo reproductor. No obstante, esta población alpina sufre unas oscilaciones poblacionales muy fuertes (de 35 a 95 indiv/ha), mientras que la abundancia en Peñalara es más constante (de 53 a 62 indiv/ha).

Por otro lado, a partir de nuestros datos hemos podido comprobar que los valores de densidad son muy distintos dependiendo de si el número de individuos va referido al área muestreada (*naive density*) o al área efectiva de muestreo (corregido con la banda W) (Tabla 3-9). Así obtenemos en Peñalara unos valores medios para primavera de 24 indiv/ha, y para verano-otoño de 28 indiv/ha, considerando el área efectiva de muestreo (densidad corregida); y de 53 y 62 indiv/ha si sólo se considera la superficie trampeada (densidad *naive*). Vistas estas diferencias y con fines comparativos entre trabajos, áreas de estudio o especies, es preciso, pues, especificar el modo en el que se han calculado las estimas de densidad poblacional. Para aumentar la exactitud y precisión de las estimas de densidad éstas deberían considerar el área efectiva de muestreo añadiendo una banda de ancho W. En estudios basados en el uso de una malla de trampeo, el ancho de banda (W) que produce las estimas más reales equivale a la distancia media máxima recorrida entre recapturas (Parmenter *et al.* 2003).

4.3. EL TOPILLO NIVAL DENTRO DEL CONTINUO DE LAS ESTRATEGIAS DE REPRODUCCIÓN r- y K-

Este apartado pretende ser una síntesis en la que se combina tanto información bibliográfica como resultados propios. Aunque bien podría haber formado parte del capítulo anterior, la inclusión de las tasas de supervivencia específicas por edades, obtenidas en este capítulo, como pieza clave para comprender la estrategia vital del topillo nival, justifican su ubicación en este punto.

En síntesis, el topillo nival sigue una estrategia demográfica caracterizada por los siguientes rasgos:

- 1) el tamaño poblacional es muy estable a lo largo del año y entre años
- 2) el número de camadas normalmente es de sólo dos al año (Le Louran y Janeau 1975; Janeau y Aulagnier 1997)
- 3) el número de crías por camada es bajo comparado con otros microtininos. Con un rango de 1-4 y una media de tres embriones (Kahmann y Halbgewachs 1962), generalmente suelen llegar a término entre dos y tres crías por camada (Frank 1954; Le Louran y Janeau 1975). Comparando este valor con el de otras 15 especies de microtininos listadas en Nadeau (1985), tenemos que sólo el *Microtus pinetorum* tiene un tamaño medio de camada menor que el topillo nival
- 4) el peso medio de las crías al nacer es muy elevado en comparación con otras especies. Con 3.6g de peso medio (Frank 1954), los neonatos de topillo nival sólo son superados en peso por los de *M. richardsoni* de una comparativa entre 21 especies de topillos (Innes y Millar 1994)
- 5) el desarrollo de las crías es muy lento: mientras otras especies abren los ojos a los 7-8 de nacer (media de 8 especies- Nadeau 1985) y empiezan a comer sólido a partir de los 10 días (media de 12 especies- Nadeau 1985), las crías de topillo nival no abren los ojos hasta el día 13, no empiezan a comer sólido hasta el 17 y la movilidad y coordinación completas no las adquieren hasta el día 22 (Krapp 1982)
- 6) los jóvenes no se reproducen generalmente hasta el inicio de su segundo año de vida, mientras que en la mayoría de las especies de microtininos los animales ya son reproductores a los 2-3 meses, habiendo casos extremos de madurez sexual precoz, como las hembras de *Microtus rossiameridionalis* que dan a luz por primera vez cuando a penas tienen un mes de edad (Yoccoz y Ims 1999)
- 7) todas estas características hacen que la tasa de renovación poblacional (turn-over rate) sea muy baja,
- 8) pero a cambio, el mantenimiento y la estabilidad del tamaño poblacional está compensada por una alta tasa de supervivencia, especialmente notable en la etapa juvenil.

Como se puede ver, los parámetros demográficos de las poblaciones de topillo nival se sitúan entre los más extremos de los microtininos (Innes y Millar 1994; Yoccoz y Ims 1999), y en líneas generales su estrategia demográfica se caracteriza por tener una baja tasa de reproducción, un crecimiento lento y una elevada supervivencia, cuyos efectos se compensan haciendo que el tamaño poblacional sea muy estable.

La teoría de selección de la estrategia reproductiva K- o r- (MacArthur y Wilson 1967) establece dos estrategias extremas: por un lado los K- estrategias, animales que típicamente se desarrollan en ambientes estables y predecibles que les permiten una mayor eficiencia en el uso de los recursos, y en consecuencia en la producción de las crías, y en el lado opuesto los r- estrategias, más bien de ambientes inestables a los que los animales responden con una alta productividad aprovechando los impredecibles picos de abundancia de recursos (Pianka 1970). Los micromamíferos se consideran en general r- estrategias (Batzli 1992), sin embargo, dentro de este gradiente, las características reproductivas que presenta el topillo nival son más bien típicas de un estrategia de la K-, como ya apuntaron Leconte (1983) y Nieder y Bocchini (1993).

Dentro de los micromamíferos, el topillo nival no es el único K- estrategia. Este tipo de estrategia vital, con bajas tasas de reproducción y alta supervivencia, ha sido observado en otras especies de micromamíferos, pertenecientes a grupos taxonómicos distintos, pero con el factor común de habitar en ambientes con un periodo vegetativo corto, pero estable y predecible (Yoccoz y Ims 1999; Juskaitis 2003). Efectivamente, el hábitat del topillo nival tiene estas características. Yoccoz e Ims (1999) pusieron de manifiesto la importancia de la cobertura nival en los ambientes de alta montaña donde los neverones son más comunes. La gruesa y predecible capa de nieve que cubre los ambientes alpinos crea unas condiciones térmicamente estables bajo la nieve (efecto “iglú”), y además sirve de protección frente a los depredadores (Janeau y Aulagnier 1997), favoreciendo de esta manera una elevada supervivencia invernal y manteniendo el tamaño poblacional dentro de un rango muy estable durante todo el año.

Sin embargo, no se puede decir que las características demográficas de los neverones (baja tasa de reproducción y alta supervivencia) hayan evolucionado

específicamente en respuesta a un ambiente nival, pues los topillos nivales no son exclusivos de los ambientes alpinos, sino de los ambientes rocosos (canchales, roquedos, pedregales...) a cualquier altitud. Así, si bien es cierto que los neverones son más abundantes en la alta montaña, porque es allí donde son más frecuentes los hábitats rocosos de los que depende, también hay poblaciones a baja altitud, donde no se puede hablar de cobertura de nieve en ningún momento del año (Niethammer 1964; Krystufek y Kovacic 1989; Nappi 2002). En este sentido, en otras especies de mamíferos restringidas a hábitats rocosos también se ha observado que éstas tienen una menor tasa de renovación poblacional que sus conespecíficos de hábitats abiertos (e.g. pikas, *Ochotona princeps*, ratón cervuno *Peromyscus maniculatus*, etc...(Mares y Lacher 1987; Yoccoz y Ims 1999)). Es decir, pocas crías por parto (pequeño tamaño de camada) y una tasa de renovación poblacional baja, tienden a ser características comunes entre las especies de mamíferos que viven en hábitats rocosos (marmotas, pikas, vizcachas, topillos, ratones...). La elevada distancia filogenética entre estas especies implica que los rasgos comunes entre las mismas son el resultado de la convergencia adaptativa a estos hábitats tan específicos (Mares y Lacher 1987). La existencia de estos hábitats rocosos es limitada y discontinua en el paisaje, con lo que el crecimiento poblacional también ha de ser limitado. Dada la notable estabilidad del tamaño de las poblaciones de topillo nival, y puesto que no existe una importante presión de mortalidad que limite su crecimiento poblacional, proponemos, como Yoccoz e Ims (1999) ya sugirieron, que las poblaciones de neverones se regulan mediante un proceso denso-dependiente que les lleva a invertir poco en la reproducción a cambio de tener una alta supervivencia.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Akaike, H. (1973). Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. Pp. 267-281. En: Petrov, B. N. y Csaksi, F. (eds.). *2nd International Symposium on Information Theory*. Akademiai Kiado, Budapest, Hungary.
- Anderson, D. R., Burnham, K. P. y White, G. C. (1994). AIC model selection in overdispersed capture-recapture data. *Ecology*, 75 (6):1780-1793.

- Batzli, G. O. (1992). Dynamics of small mammal populations: a review. Pp. En: McCullough, D. R. y Barrett, R. H. (eds.). *Wildlife 2001: Populations*. Elsevier Appl. Sci., New York. 1163 pp.
- Bocchini, M. y Nieder, L. (1994). Habitat preferences, structure and population dynamics of *Microtus nivalis* in the Northern Apennines. *Polish Ecological Studies (Pol. ecol. Stud.)*, 20 (3-4):115-121.
- Bowden, D. C., White, G. C., Franklin, A. B. y Ganey, J. L. (2003). Estimating population size with correlated sampling unit estimates. *Journal of Wildlife Management*, 67 (1):1-10.
- Burnham, K. P. y Anderson, D. R. (2002). *Model selection and multi-model inference. A practical information theoretic approach. (2nd edition)*. New York. Springer-Verlag. 496 pp.
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., White, G. C., Brownie, C. y Pollock, K. H. (1987). Design and analysis methods for fish survival experiments based on release-capture. *American Fisheries Society*, Monograph. 5.
- Carothers, A. D. (1973). The effects of unequal catchability on Jolly-Seber estimates. *Biometrics*, 29:79-100.
- Carothers, A. D. (1979). Quantifying unequal catchability and its effect on survival estimates in an actual population. *Journal of Animal Ecology*, 48:863-869.
- Caughley, G. (1977). *Analysis of vertebrate populations*. Wiley, London. 234 pp.
- Converse, S. J., Dickson, B. G., White, G. C. y Block, W. (2004). Estimating small mammal abundance on fuels treatment units in southwestern ponderosa pine forest. Pp. 113-120. En: Riper, v. C. y Cole, K. L. (eds.). *The Colorado Plateau: cultural, biological, and physical research*. Tucson, Arizona. Univ. of Arizona Press.
- Cooch, E. y White, G. C. (2007). *Program Mark: a gentle introduction. 5th edition*. <http://www.phidot.org/software/mark/docs/book/>. 659 pp.
- Cormack, R. M. (1964). Estimates of survival from the sighting of marked animals. *Biometrika*, 51:429-438.
- Frank, F. v. (1954). Beiträge zur Biologie, insbesondere Jugendentwicklung der Schneemaus (*Microtus nivalis* Mart.). *Z. Tierpsychol.*, 11:1-19.
- Gurnell, J. y Flowerdew, J. R. (1990). *Live trapping small mammals. A practical guide*. Occasional publication (The Mammal Society) ; no. 3. London. 39 pp.

- Hörnfeldt, B. (2004). Long-term decline in numbers of cyclic voles in boreal Sweden: analysis and presentation of hypotheses. *Oikos*, 107(2):376-392.
- Huggins, R. M. (1989). On the statistical analysis of capture experiments. *Biometrika*, 76 (1):133-140.
- Huggins, R. M. (1991). Some practical aspects of a conditional likelihood approach to capture experiments. *Biometrics*, 2:725-732.
- Hurvich, C. M. y Tsai, C. (1989). Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*, 76:297-307.
- Innes, D. G. L. y Millar, J. S. (1994). Life histories of *Clethrionomys* and *Microtus* (Microtinae). *Mammal Review*, 24, No.4:179-207.
- Janeau, G. (1980). Répartition écologique des micromammifères dans l'étage alpin de la région de Briançon. *Mammalia*, 44 (1):1-25.
- Janeau, G. y Aulagnier, S. (1997). Snow vole- *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Journal of Mountain Ecology*, 4:1-11.
- Jolly, G. M. (1965). Explicit estimates from capture-recapture data with both death and immigration - Stochastic model. *Biometrika*, 52:225-247.
- Juskaitis, R. (2003). Breeding by young-of-the-year females in common dormouse, *Muscardinus avellanarius*, populations in Lithuania. *Annales zoologici fennici*, 40:529-535.
- Kahmann, H. y Halbgewachs, J. (1962). Beobachtungen and der Scheneemaus, *Microtus nivalis* Martins, 1842, in den Bayerishcen Alpen. *Z. Säugetierk*, 10:64-82.
- Kendall, W. L. (1999). Robustness of closed capture-recapture methods to violations of the closure assumption. *Ecology*, 80:2517-2525.
- Kendall, W. L. (2001). The robust design for capture-recapture studies: analysis using program Mark. *Proceedings of the 3rd International Wildlife Conference*, Chapter 7:357-360.
- Kendall, W. L. y Nichols, J. D. (1995). On the use of secondary capture-recapture samples to estimate temporary emigration and breeding proportions. *Journal of Applied Statistics*, 22:751-762.
- Kendall, W. L., Nichols, J. D. y Hines, J. E. (1997). Estimating temporary emigration using capture-recapture data with Pollock's robust design. *Ecology*, 563-578.
- Kendall, W. L. y Pollock, K. H. (1992). The Robust Design in capture-recapture studies: a review and evaluation by Monte Carlo simulation. Pp. 31-43. En: McCullough, D.

- R. y Barrett, R. H. (eds.). *Wildlife 2001: Populations*. Elsevier Appl. Sci., New York. 1163pp.
- Kendall, W. L., Pollock, K. H. y Brownie, C. (1995). A likelihood-based approach to capture-recapture estimation of demographic parameters under the robust design. *Biometrics*, 51:293-308.
- Krapp, F. (1982). *Microtus nivalis* (Martins, 1842)- Schneemaus. Pp. 261-283. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Krebs, C. J. (1966). Demographic changes in fluctuating populations of *Microtus californicus*. *Ecological Monographs*, 36:239-273.
- Krebs, C. J. (1996). Population cycles revisited. *Journal of Mammalogy*, 77(1):8-24.
- Krebs, C. J. (2002). *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*. Benjamin Cummings. 816 pp.
- Krystufek, B. y Kovacic, D. (1989). Vertical distribution of the Snow vole *Microtus nivalis* (Martins, 1842) in Northwestern Yugoslavia. *Z. Säugetierk*, 54:153-156.
- Le Louran, H. y Janeau, G. (1975). Répartition et biologie du campagnol des neiges *Microtus nivalis* Martins dans la région de Briançon. *Mammalia*, 39 (4):589-604.
- Lebreton, J. D., Burnham, K. P., Clobert, J. y Anderson, D. R. (1992). Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs*, 62 (1):67-118.
- Leconte, M. (1983). Ecologie de *Microtus (Chionomys) nivalis* en milieu alpine. *Act. VII Colloque National de Mammalogie*, 155-165, Grenoble 15 -16 Octobre.
- Lincoln, F. C. (1930). Calculating waterfowl abundance on the basis of banding returns. *U.S. Department of Agriculture Circular*, 118:1-4.
- Locatelli, R. y Paolucci, P. (1999). Bio-ecologia di arvicola delle nevi *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) nelle Alpi orientali. *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, 48 (supplemento):221-224.
- Luque-Larena, J. J. y Gosálbez, J. (2002). *Chionomys nivalis* Martins, 1842. Pp. 366-369. En: Palomo, L. J. y Gisbert, J. (eds.). *Atlas de los Mamíferos terrestres de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-SECEM-SECEMU, Madrid. 564 pp.
- MacArthur, R. H. y Wilson, E. O. (1967). *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 203 pp.

- Mares, M. A. y Lacher, T. E. (1987). Behavioural convergence in rock-dwelling mammals. Pp. En: Genoways, H. H. (eds.). *Current mammalogy*. Plenum Press, New York. 519 pp.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2001). Grupo de Trabajo Fitosanitario de Vertebrados Perjudiciales. *Daños en la agricultura causados por vertebrados*. Ediciones Mundi-Prensa. 177pp.
- Ministry of Environment, Lands and Parks (1998). Inventory methods for small mammals: shrews, voles, mice and rats. Standards for componets of Birtish Columbia's biodiversity, No. 31. 89 pp. Published by the Resources Inventory Committee of Brittish Columbia, USA.
- Nappi, A. (2002). Vertical distribution of the snow vole *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) (Rodentia, Arvicolidae) in Italy. *Hystrix*, 13 (1-2):45-52.
- Nichols, J. D., Hines, J. E. y Pollock, K. H. (1984). The use of a robust capture-recapture design in small mammal population studies: a field example with *Microtus pennsylvanicus*. *Acta Theriologica*, 29:357-365.
- Nichols, J. D. y Pollock, K. H. (1983). Estimation methodology in contemporary small mammal capture-recapture studies. *Journal of Mammalogy*, 64:253-260.
- Nichols, J. D. y Pollock, K. H. (1990). Estimation of recruitment from immigration *versus* in situ reproduction using Pollock's robust design. *Ecology*, 71:21-26.
- Niethammer, J. (1964). Ein Beitrag zur Kenntnis der Kleinsäuger Nordspanien. *Z. Säugetierk*, 29 (4):193-220.
- Otis, D. L., Burnham, K. P., White, G. C. y Anderson, D. R. (1978). Statistical inference from capture data on closed animal populations. *Wildlife Monographs*, 62:1-135.
- Parmenter, R. R., Yates, T. L., Anderson, D. R., Burnham, K. P., Dunnum, J. L., Franklin, A. B., Friggens, M. T., Lubow, B. C., Miller, M., Olson, G. S., Parmenter, C. A., Pollard, J., Rexstad, E., Shenk, T. M., Stanley, T. R. y White, G. C. (2003). Small-mammal density estimation: a field comparison of grid-based vs. web-based density estimators. *Ecological Monographs*, 73(1):1-26.
- Pianka, E. (1970). On r- and K- selection. *American Naturalist*, 104:592-597.
- Pledger, S. (2000). Unified maximum likelihood estimates for closed capture-recapture models using mixtures. *Biometrics*, 56:434-442.
- Pollock, K. H. (1982). A capture-recapture design robust to unequal probability of capture. *Journal of Wildlife Management*, 46:752-757.

- Pollock, K. H., Kendall, W. L. y Nichols, J. D. (1993). The "robust" capture-recapture design allows components of recruitment to be estimated. Pp. 245-252. En: Lebreton, J. D. y North, P. M. (eds.). *Marked individuals in the study of bird population*. Birkhäuser Verlag, Basel, Suiza. 397pp.
- Pollock, K. H., Nichols, J. D. y Hines, J. E. (1990). Statistical inference for capture-recapture experiments. *Wildlife monographs*, 107:1-97.
- Sandercock, B. K. (2006). Estimation of demographic parameters from live-encounter data: a summary review. *Journal of Wildlife Management*, 70(6):1504-1420.
- Seber, G. A. F. (1965). A note on the multiple-recapture census. *Biometrika*, 52:249-259.
- Seber, G. A. F. (1982). *The estimation of animal abundance and related parameters*. MacMillan, New York. 676 pp.
- Sibbald, S., Carter, P. y Poulton, S. (2006). Proposal for a national monitoring scheme for small mammals in the United Kindom and the Republic of Eire. *The Mammal Society Research Report No. 6.*, 90 pp.
- Soriguer, R., Pérez, J. M. y Fandos, P. (1997). Métodos en mastozoología. *Galemys*, 9:15-37.
- Southwood, T. R. E. y Henderson, P. A. (2000). *Ecological methods*. Blackwell Science Ltd. Massachusetts. 575 pp.
- Tellería, J. L. (1986). *Manual para el censo de los vertebrados terrestres*. Santander. 278 pp.
- White, G. C. (2002). Discussant: the use of auxiliary variables in capture-recapture modeling: an overview. *Journal of Applied Statistics*, 29:103-106.
- White, G. C., Anderson, D. R., Burnham, K. P. y Otis, D. L. (1982). *Capture-recapture and removal methods for sampling closed populations*. Los Alamos National Laboratory. Los Alamos, New Mexico. 227 pp.
- White, G. C. y Burnham, K. P. (1999). Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. *Bird study*, 46, supplement:120-138.
- Wilson, J. A., Lochmiller, R. L. y Janz, D. M. (2006). Population dynamics of cotton rats (*Sigmodon hispidus*) inhabiting abandoned petroleum landfarms in Oklahoma, USA. *Ecotoxicology*, 15:19-30.
- Wilson, K. R. y Anderson, D. R. (1985). Evaluation of two density estimators of smalll mammal population size. *Journal of Mammalogy*, 66(1):13-21.

- Williams, B. K., Nichols, J. D. y Conroy, M. J. (2002). *Analysis and management of animal populations*. Academic Press. 817 pp.
- Yoccoz, N. G. y Ims, R. A. (1999). Demography of small mammals in cold regions: the importance of environmental variability. Pp. 137-144. En: Hofgaard, A., Ball, J. P., Danell, K. y Callaghan, T. V. (eds.). *Animal responses to global change in the north. Ecological Bulletins (47)*. Lund, Sweden. 187 pp.

MODELOS DE CAPTURA-MARCAJE-RECAPTURA
Y DINÁMICA POBLACIONAL
DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

Capítulo 4

PATRONES DE USO DEL ESPACIO E INFERENCIAS SOBRE EL SISTEMA DE APAREAMIENTO EN EL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

1. INTRODUCCIÓN.....	210
2. METODOLOGÍA.....	215
2.1. Evaluación de técnicas aplicadas al estudio de las áreas de campeo en micromamíferos	215
2.2. Localidades de estudio y toma de datos. Técnicas de radiotelemetría aplicadas al topillo nival.....	216
2.3. Tratamiento y análisis de los datos de campo	219
2.3.1. Triangulación de las radiolocalizaciones y software utilizado	219
2.3.2. Modelos de estudio de las áreas de campeo	220
2.3.3. Selección del modelo más adecuado	225
2.3.4. El modelo elegido.....	226
2.3.5. Elección del porcentaje de UD para la estima del área de campeo mediante kernels.....	227
2.3.6. Delimitación de los centros de actividad o core areas.....	229
2.3.7. Métodos estadísticos.....	230
3. RESULTADOS	231
3.1. Tamaños muestrales e independencia de las localizaciones.....	231
3.2. Tamaño de las áreas de campeo	233
3.3. Tamaño de los centros de máxima actividad.....	235
3.4. Áreas de campeo y peso del animal	236
3.5. Solapamiento espacial entre áreas de campeo (interacciones estáticas).....	237
3.6. Solapamiento temporal entre áreas de campeo (interacciones dinámicas).....	241
4. DISCUSIÓN.....	242
4.1. Uso del espacio de los neverones en la colonia de Peñalara	242
4.2. Inferencias sobre el sistema de apareamiento.....	244
4.3. Uso del espacio de los neverones en la colonia de S.Nevada	246
4.4. Consideraciones metodológicas	248
5. BIBLIOGRAFÍA	250

1. INTRODUCCIÓN

El área de campeo o dominio vital se define tradicionalmente como “el área situada alrededor del lugar donde vive un animal y que éste recorre regularmente en sus actividades de búsqueda de alimento” (Burt 1943). El término fue redefinido por Jewell (1966) como “el área que un animal recorre normalmente a lo largo de sus actividades rutinarias”, dando así cabida también a las relaciones sociales, como la búsqueda de pareja o el cuidado de la prole, como parte de aquellas actividades que se desarrollan dentro del área de campeo de un animal, y no sólo a la búsqueda de alimento.

Los límites del área de campeo pueden o no coincidir con los del territorio, y éste, por tanto, puede ser igual que el área de campeo, o ceñirse solo a una parte concreta de la misma. El concepto de “territorio” ha sufrido muchas definiciones y casi todas ellas implican la defensa de un área, bien de forma directa, o indirecta, a través de señales visuales, acústicas y/u olfativas. Por otro lado, otra característica importante de la territorialidad es que proporciona el acceso exclusivo a un recurso en particular (Ishibashi *et al.* 1999).

Desde hace tiempo se reconoce el hecho de que la distribución de los recursos juega un papel clave en la organización espacial de las poblaciones animales (Davies 1978; Tellería 1986). Y, precisamente, la clave para entender cómo se distribuyen en el espacio los individuos de una población es conocer cuáles son esos recursos clave o limitantes. En el caso de los micromamíferos, numerosos estudios han demostrado que el grado de territorialidad puede ser muy diferente entre especies e incluso entre sexos de la misma especie (Ostfeld 1985; Wolff 1985; Ims 1987; Ostfeld 1990; Tamarin *et al.* 1990). Además, el establecimiento de las áreas de campeo, sus límites, tamaño y situación en relación a otros individuos parecen obedecer a distintas presiones en machos y en hembras.

Bajo este escenario, se han planteado varias hipótesis que tratan de explicar la segregación de los individuos en poblaciones de microtinós. Por un lado está la “hipótesis de las hembras en el espacio” (“females in space hypothesis” o la “FIS hypothesis”) (Ostfeld 1985; Ostfeld 1990) que predice que, en términos generales, las hembras ajustan su distribución a la disponibilidad de alimento, pues éste será el factor limitante de su éxito reproductivo. Durante la gestación y la lactancia, las hembras experimentan un gasto energético extremo que puede llegar a elevar los requerimientos energéticos desde el 30% al 130% (Ostfeld 1985). Esta elevada demanda energética que experimentan las hembras durante la época reproductiva, hace que la distribución, la abundancia y la tasa de renovación de los recursos alimenticios tiendan a ser los factores determinantes en la selección de sus territorios. Por el contrario, en los machos, que en la mayoría de las especies no intervienen en el cuidado parental, el éxito reproductivo (o fitness) está limitado por el acceso a las hembras, más que por la adquisición de nutrientes, y por tanto ajustan su distribución espacial a la de aquellas (Ostfeld 1985). Según esta hipótesis, en una situación en la que el alimento sea escaso y con una distribución parcheada, las hembras deberían ser territoriales para monopolizar el recurso. En consecuencia la distribución de estas también será parcheada y dispersa, por lo que los machos no serán capaces de defender territorios tan amplios que cubran el de varias hembras y que además sean excluyentes entre sí, de manera que solaparán los de unos machos con los de otros (promiscuidad); o bien cada macho se limitará a defender una única hembra, centrando su área de campeo sobre la de ésta y monopolizando su acceso (monogamia). En el otro extremo, tendríamos una situación en la que la abundancia y distribución homogénea del alimento es tal que las hembras presentan áreas de campeo solapantes, y en contraste, los machos defenderán territorios excluyentes entre sí y que monopolicen el de una (monogamia) o varias hembras (poligamia), en función del tamaño del área de campeo de éstas.

Como acabamos de ver, Ostfeld modeliza la distribución de los machos teniendo en cuenta únicamente la distribución espacial de las hembras, sin contar con que la distribución de las hembras fértiles también tiene un componente temporal (Emlen y Oring 1977). A partir de esta idea, Ims (1987) propone una hipótesis alternativa conocida como la

“hipótesis de las hembras en el espacio y el tiempo” (“females in space and time hypothesis” o la “FIST hypothesis”) (Ostfeld 1990). Cuando el alimento está homogéneamente repartido en el espacio y las hembras no necesitan defender este recurso mediante la territorialidad, sino que tienen áreas solapantes, todas ellas se verán afectadas de igual manera por la cantidad y calidad del alimento disponible. Cuando estos parámetros sean los adecuados, todas las hembras se mostrarán simultáneamente receptivas y se reproducirán en sincronía. Según la hipótesis de Ims, en estos casos, los machos se beneficiarían de seguir una estrategia de territorialidad defendiendo un área que monopolice un grupo de hembras. Por el contrario, cuando la reproducción se va disparando asincrónicamente en hembras que defienden territorios aislados, los machos deberían ser itinerantes para acceder al mayor número de hembras fértiles, lo que resulta en grandes territorios no excluyentes. La defensa de hembras no receptivas mientras que otras sí lo están no les resultaría rentable (Ims 1987).

Según venimos anticipando con lo expuesto hasta ahora, el grado de territorialidad intra- e intersexual que manifiestan los individuos de una población condiciona la segregación espacial (spacing behaviour) de éstos, que a su vez está íntimamente relacionada con el sistema de apareamiento (Emlen y Oring 1977; Madison 1980; Ostfeld 1985; Wolff 1985; Ims 1987; Madison y McShea 1987; Gaulin y FitzGerald 1988; Ostfeld 1990; Viitala y Pusenius 1990; Lambin y Krebs 1991; Viitala *et al.* 1996; Gliwicz 1997). Así, a grandes rasgos, si ambos sexos son territoriales y el área de campeo de un macho y una hembra reproductores presentan un gran solapamiento entre sí, pero sin ningún otro individuo adulto más sería indicativo de monogamia (e.g. *Microtus ochrogaster*: Getz, 1987; *M. pinetorum*: FitzGerald y Madison, 1983; *M. cabreræ*: Fernández-Salvador *et al.*, 2001). En la poliginia los machos habrán de ser territoriales, y con áreas relativamente más grandes que las de las hembras, de forma que cada uno cubra el área de campeo de varias de ellas monopolizando su acceso (e.g. *M. oeconomus*: Gliwicz, 1997; *M. californicus*: Ostfeld, 1990; *M. xanthognathus*: Wolff y Lidicker, 1980). Si por el contrario, las hembras son territoriales, mientras que los machos presentan amplias áreas de campeo solapantes entre sí, y que cubren a su vez las de varias hembras, entonces estaríamos hablando de un sistema de tipo promiscuo en el que ambos sexos pueden copular con múltiples parejas (e.g. *M. pennsylvanicus*: Madison, 1980; *Clethrionomys sp.*: Heske y Ostfeld, 1990) (c.f. Figura 4-1).

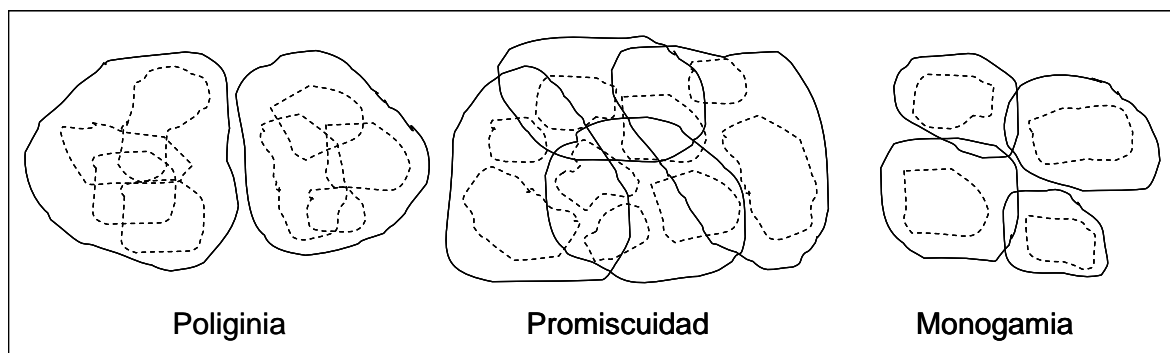


Figura 4-1.- Representación esquemática de los sistemas de apareamiento básicos en microtininos. Las líneas discontinuas representan el área de campeo de las hembras y las continuas la de los machos. (Tomado de Ostfeld, 1990).

No se puede hablar, por tanto, de un tipo específico de organización social que impere en las comunidades de microtininos, sino que dentro de este grupo la variabilidad en los sistemas de emparejamiento y comportamiento social es tan amplia como en el conjunto de todos los mamíferos (Wolff 1985). Esta alta variabilidad en los sistemas de organización espacial en los microtininos no solo se manifiesta a nivel interespecífico, sino que también se da a nivel intraespecífico. La variabilidad intraespecífica de los patrones de ocupación espacial y sistemas de emparejamiento se ha observado tanto entre poblaciones de una misma especie en distintas situaciones ambientales (Viitala y Pusenius 1990) como en una misma población a lo largo del tiempo (estaciones) (FitzGerald y Madison 1983; Madison y McShea 1987; Lambin y Krebs 1991; Gliwicz 1997). En ambas situaciones se pone de manifiesto que el alto grado de plasticidad fenotípica (o flexibilidad) que caracteriza el comportamiento social en microtininos es modulado estacionalmente para una mejor adaptación de los animales a las condiciones ambientales (clima, disponibilidad de alimento...) y sociales (densidad poblacional, proporción de sexos, etc...) (Madison 1985; Wolff 1985; Mares y Lacher 1987; Viitala y Pusenius 1990; Viitala *et al.* 1996). Esta respuesta ambiental sugiere que los patrones de organización social no están fijados genéticamente, y de hecho la plasticidad de los mismos se considera un rasgo “adaptativo” en microtininos (Ostfeld y Klosterman 1990; Viitala *et al.* 1996). Ello hace que los modelos de territorialidad que las hipótesis de Ostfeld e Ims predicen tengan numerosas excepciones.

Resumiendo, la variabilidad y plasticidad de los patrones de organización social y sistemas de apareamiento inter- e intraespecíficos en microtininos es tan alta que hay que tener presente que no se puede hablar de un determinado patrón para una especie sino que hay especies que pueden llegar a exhibir uno, dos o incluso los tres sistemas de apareamiento (monogamia, poliginia o promiscuidad) bien sucesionalmente, o de forma facultativa según las condiciones ambientales y sociales, como *M.pinetorum* que es monógamo facultativo cuando la densidad poblacional es baja (FitzGerald y Madison 1983) o *M.duodecimcostatus*, en el que la monogamia es dominante, pero otros sistemas se pueden observar simultáneamente en otras topilleras de la misma colonia (Soriguer 1986). Pocas son las especies que siguen un patrón invariable, como *M.ochrogaster* que es monógamo obligado (Getz *et al.* 1987).

Recientemente Luque-Larena *et al.* 2004 aportaron el estudio más completo hasta la fecha sobre el comportamiento espacial de topillo nival, llegando a la conclusión de que el sistema de apareamiento dominante es de tipo promiscuo. El estudio se basó en una población de neverones de la sierra madrileña de Guadarrama. Teniendo en cuenta el escenario de alta plasticidad fenotípica de los patrones de organización social expuesto más arriba, nuestro propósito en este trabajo es estudiar el patrón espacial y sistema de apareamiento en dos nuevas localidades de estudio de *C.nivalis* (Peñalara –Madrid- y Sierra Nevada –Andalucía-) con el fin de: a) conocer si el patrón encontrado concuerda con el actualmente descrito (Luque-Larena *et al.* 2004) o si el ajuste a las condiciones locales de nuestras colonias han hecho que ese patrón derive hacia otro tipo de estrategia; y b) en el caso de encontrar diferencias con el patrón espacial y reproductivo descrito o diferencias entre nuestras localidades, intentar determinar las causas que han podido dirigir esos cambios.

Para abordar esta aproximación al conocimiento del patrón espacial y sistema de apareamiento en *C.nivalis* nos basamos en el estudio del tamaño y la distribución relativa de las áreas de campeo individuales (Madison 1980; FitzGerald y Madison 1983; Madison y McShea 1987; Gaulin y FitzGerald 1988; Karlsson 1988; Ostfeld y Klosterman 1990; Lambin y Krebs 1991; Batzli y Henttonen 1993; Gliwicz 1997; Ribble y Stanley 1998) a partir de datos de radiotelemetría. En este capítulo hacemos además una extensa revisión

de la metodología existente para el tratamiento de esos datos, con el fin de argumentar la adecuación de las técnicas finalmente elegidas y proponer una metodología y criterios homogéneos para hacer posible la comparación entre estudios futuros de áreas de campeo a partir de datos de radiotelemetría.

2. METODOLOGÍA

2.1. EVALUACIÓN DE TÉCNICAS APLICADAS AL ESTUDIO DE LAS ÁREAS DE CAMPEO EN MICROMAMÍFEROS

La determinación del tamaño y distribución de las áreas de campeo de animales pequeños y de hábitos huidizos, que no permiten su observación directa, es una tarea complicada. En la bibliografía y en la experiencia de los investigadores se pueden encontrar métodos como las capturas en vivo, el uso de polvos fluorescentes o el radioseguimiento para registrar las áreas por las que se mueven los animales.

Las **capturas en vivo** (live trapping) de los animales en sucesivas ocasiones sin duda reflejan las zonas de uso de un animal. Se puede decir que este es el método más intuitivo y directo para estudiar las áreas de campeo, y como tal lleva en uso al menos desde los años 1940 (Blair 1940). Hoy en día sigue siendo un método muy frecuentemente usado en estudios de áreas de campeo de micromamíferos (más del 70% de los casos) (Ribble *et al.* 2002). Sin embargo presenta serios inconvenientes pues tiende a infravalorar la superficie del área de campeo (Ribble y Stanley 1998), y lo que resulta aún más grave, no se puede eliminar la influencia de la malla de trampeo, que por un lado limita las observaciones a las posiciones de las trampas y por otro siempre restará la cuestión de hasta qué punto las recapturas reflejan los movimientos naturales de los animales y no un sesgo de éstos debido a la atracción o repulsión hacia el cebo que las trampas contienen o a las mismas trampas (Desy *et al.* 1989; Andrzejewski 2002).

El uso de **polvos fluorescentes** (powdertracking) (Lemen y Freeman 1985) para impregnar a los animales delatan también los movimientos de éstos cuando posteriormente

se ilumina con luz ultravioleta el rastro de polvo desprendido. Esta es una técnica barata y sencilla, pero el polvo se desprende muy rápido con lo que el rastro deja de ser visible pronto, hasta el punto de que es necesario recapturar a los animales a diario para darles un nuevo baño en polvos (Jike *et al.* 1988). Nuestra experiencia personal confirma que efectivamente de un día para otro el polvo se ha perdido por completo en *C.nivalis* y *A.sylvaticus*. Además, dadas las características del medio de la especie de estudio es inviable seguir el rastro de polvo una vez que el animal se escabulle por entre los intersticios de los roquedos.

Por último, la aplicación de las **técnicas de radioseguimiento o telemetría** (radiotracking) al rastreo de fauna (Cochran y Lord 1963) supuso un gran avance para los estudios de las áreas de campeo, pues permiten controlar los movimientos de los animales sin la interferencia de las trampas. Esta técnica exige la colocación de un dispositivo emisor de señales de radio en los animales. Cada dispositivo (ej. collar emisor) tiene una frecuencia de emisión que el investigador detecta con un receptor de radio desde posiciones conocidas (mediante gps) en el campo, y desde las cuales estima el ángulo de donde procede la señal, con ayuda de una brújula. Mediante la triangulación de dos ó más rumbos se calcula, a posteriori, el punto de intersección, que indica la posición del animal en un momento dado. Las técnicas de radiotracking permiten por tanto conocer cuándo y cuánto tiempo está un animal en cada sitio particular, con lo que no sólo aportan información del tamaño y situación del área de campeo de los animales, sino que también permiten inferir acerca de las interacciones sociales y espaciales de los mismos (Ribble y Stanley 1998). Por estas características elegimos las técnicas de radioseguimiento para estudiar las áreas de campeo de los topillos nivales.

2.2. LOCALIDADES DE ESTUDIO Y TOMA DE DATOS. TÉCNICAS DE RADIOTELEMETRÍA APLICADAS AL TOPILLO NIVAL

El estudio se planteó en las dos localidades en las que está centrado el proyecto: Sierra Nevada y Peñalara, donde los datos de campo se recogieron en dos años sucesivos, 2005 y 2006 respectivamente. Con el fin de poder comparar los resultados entre

localidades el trabajo de campo se desarrolló en la misma época del año, para que los animales estuviesen en la misma fase de su ciclo fenológico. Se escogió el mes de agosto para hacer el seguimiento pues coincide con el periodo de plena reproducción para esta especie (Le Louran y Janeau 1975; Krapp 1982; Janeau y Aulagnier 1997; Locatelli y Paolucci 1999). En las dos localidades de estudio se trató de seleccionar individuos adultos en la medida de lo posible (para reducir el peso relativo del collar), y para estudiar los patrones de movimiento y ocupación de hábitat de individuos reproductores, que es lo que nos dará información sobre el sistema de apareamiento. La selección de los individuos adultos se hizo en base al peso y a la condición reproductora en el momento de la captura o registrada en el historial de capturas del animal (si éste era disponible). Asimismo se procuró equilibrar la proporción de machos y hembras radiomarcados.

En la colonia de Sierra Nevada se siguieron mediante radiotracking cuatro individuos, dos machos y dos hembras. Por lo que pueda afectar este bajo tamaño muestral a los futuros resultados, es preciso destacar que el estudio de radiotracking no fue diseñado así explícitamente, sino que la *N* de cuatro es consecuencia del escaso tamaño poblacional que presenta esta colonia, con lo que no fue posible encontrar más individuos adultos para radiomarcarse a pesar del intenso esfuerzo de muestreo realizado previo y durante el estudio. En la colonia de Peñalara se radiomarcaron diez individuos, cinco machos y cinco hembras, aunque un collar de las hembras no pudo ser localizado en ninguna ocasión, con lo que en la práctica fueron cuatro hembras marcadas.

Para las capturas de los animales se utilizaron 60 trampas de vivo cebadas y dispuestas sobre una superficie de dimensiones similares en ambas localidades. Las trampas se dejaron activas durante tres noches y se revisaron al menos tres veces cada 24 horas. Los animales capturados fueron equipados con un radiocollar tras adormecerlos con éter. Una vez recuperados de la anestesia fueron liberados en el mismo punto de captura previa comprobación de que el collar estaba bien colocado y seguía emitiendo correctamente.

La elección del modelo de los collares-emisores se basó en un equilibrio entre criterios tales como el peso, la duración de la batería, la distancia de alcance de la señal y

la frecuencia de emisión. Finalmente se probaron collares emisores de dos tipos, el TW-4 con batería Ag393 de Biotrack y el SOM-2038 de Wildlifematerials, ambos con antena externa (Figura 4-2). Los dos tipos de collares tienen un peso medio de 2.5g, lo que equivale al 5.6 ± 1.4 % de la masa corporal de los individuos marcados. Estos valores están bien por debajo del 10% del peso del animal, valor hasta el cual se ha comprobado que los collares-emisores no tienen efecto sobre el gasto energético (Berteaux *et al.* 1996) o la supervivencia de los animales (Johannesen *et al.* 1997) que los lleven.



Figura 4-2.- Ejemplar de topillo nival equipado con un collar radioemisor. La batería y dispositivo emisor quedan por la parte ventral (no visibles en la foto). La antena, de unos 8 cm de longitud queda libre en la parte dorsal.

Las frecuencias de emisión de los collares rondaron la banda de los 150 MHz, con una separación de 5kHz entre frecuencias. Siguiendo a Kenward (2001), se empleó una antena de tipo Yagi de tres elementos por ser la que presenta la mejor capacidad de recepción para este rango de frecuencias. Este tipo de antenas tienen un patrón de recepción de la señal asimétrico a lo largo del eje central, con más poder de amplificación en la parte frontal que en la posterior, por lo que se dice que son “direccionales” al facilitar

la determinación del punto del que procede la señal (Kenward 2001). Se utilizó un receptor modelo FT-290R-II de Yaesu.

La posición de los animales se tomó en intervalos de 4-6 horas. Siguiendo la metodología convencional para radioseguimiento (White y Garrott 1990; Kenward 2001) se procuró que el tiempo entre la toma de rumbos de cada localización no excediese los 20 minutos y que los ángulos formados entre pares de rumbos fueran lo más próximo posible a los 90°. Los rumbos se tomaron desde 22 puntos fijos de posición conocida (estaciones) mediante gps convencional (Garmin, Etrex) en Peñalara y mediante gps diferencial (Leika) en Sierra Nevada.

La vida media de este tipo de radiocollares de pequeño tamaño ronda los dos meses. Efectivamente pasado este tiempo ya no emitían ninguna señal y entonces se volvió a trampear la zona y se retiraron los collares de los animales capturados. El seguimiento se realizó en Sierra Nevada durante 23 días entre el 17 de agosto y el 30 de septiembre de 2005 y en Peñalara durante 18 días entre el 7 y el 31 de agosto de 2006.

2.3. TRATAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS DE CAMPO

2.3.1. Triangulación de las radiolocalizaciones y software utilizado

La triangulación de las radiolocalizaciones a partir de los rumbos tomados desde las estaciones o posiciones fijas se realizó con el programa LOCATE III (Nams 2005). Este programa ofrece la visualización de los rumbos y sus puntos de corte para cada observación (Figura 4-3), lo que permite descartar aquellos ángulos que se alejen en demasía de los 90° o las intersecciones erróneas.

Las coordenadas estimadas X e Y (en datum ED50, proyección UTM zona 30-España y Portugal) para cada localización se importaron al programa de SIG (Sistema de Información Geográfica) ARCVIEW V.3.2 (ESRI, 1992) y las estimas del tamaño y la forma de las áreas de campeo, el solapamiento entre las mismas, etc... se analizó por medio de las extensiones ANIMAL MOVEMENT (Hooge y Eichenlaub 1997) y HOME RANGE (Rodgers y Carr 1998). Las opciones para analizar este tipo de datos son múltiples, con lo que es

preciso indicar la aproximación metodológica aplicada en este estudio. En el siguiente apartado se describe el amplio abanico de modelos existentes, así como sus pros y contras para justificar la elección del modelo utilizado.

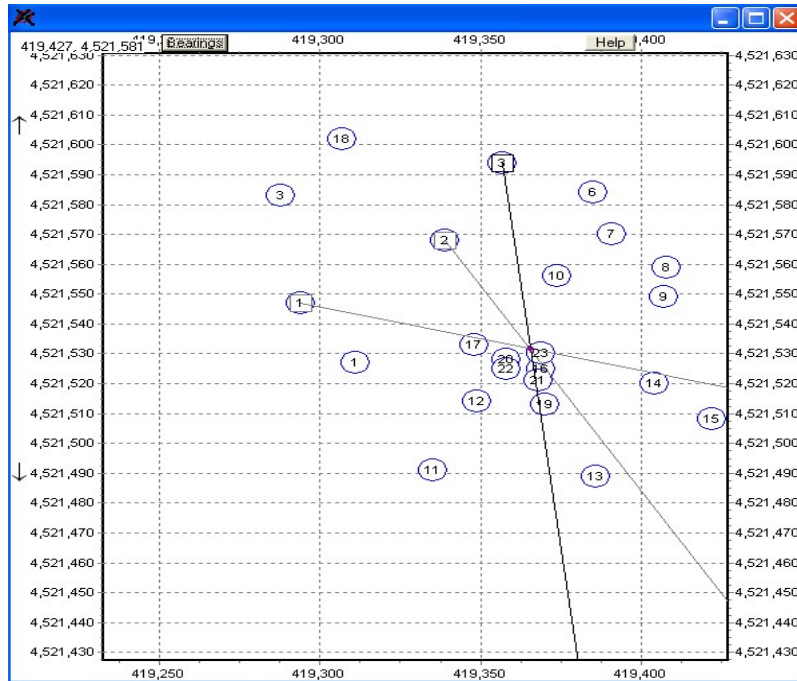


Figura 4-3.- Localización de un individuo mediante trian-gulación a partir de tres ángulos tomados desde puntos conocidos. El punto de intersección de los tres rumbos indica la posición del animal.

2.3.2. Modelos de estudio de las áreas de campeo

A lo largo de los años se han desarrollado numerosos modelos para describir y analizar los datos de localizaciones para estimar el área por la que se mueven los animales. Se pueden encontrar buenas revisiones de los mismos en Worton (1987), White y Garrot (1990), Kenward (2001) y Kernohan *et al.* (2001). A continuación se describen brevemente los modelos más destacados para el estudios de las áreas de campeo y su evolución cronológica.

Existen tres aproximaciones metodológicas al estudio de las áreas de campeo, y que se basan en el uso de 1) Polígonos, 2) Modelos paramétricos y 3) Modelos no paramétricos.

1) Polígonos:

Los métodos que usan polígonos aplican reglas de conexión entre las localizaciones más periféricas para definir un polígono que representa el área de campeo. El método más antiguo y común para estimar áreas de campeo es el del polígono de mínima área o **mínimo polígono convexo** (MCP) (Mohr 1947). El MCP se construye conectando las localizaciones más externas para formar un polígono convexo, es decir, aquel cuyos ángulos internos nunca superen los 180°. Este polígono representa el área más pequeña que engloba todas las localizaciones del animal. Es por tanto un método simple y sencillo de calcular, y se ha sugerido que es la única técnica realmente comparable entre estudios (Harris *et al.* 1990). Sin embargo, tiene el inconveniente de que el área va aumentando según se aumenta el número de observaciones (tamaño muestral), pues considera el área total utilizada, y no solo los puntos donde se desarrollan las actividades rutinarias del individuo, por tanto se ve muy afectada por los desplazamientos exploratorios de los animales lo que hace que grandes superficies de terreno, que nunca o apenas son visitadas, queden dentro del área de campeo estimada (Worton 1987; White y Garrott 1990).

Por otro lado, el MCP es el método más común para la representación de la forma y el tamaño de las áreas de campeo, sin embargo no indica el nivel de intensidad con el que el animal utiliza cada parte de su área de campeo (Harris *et al.* 1990).

2) Modelos paramétricos:

Los modelos paramétricos asumen que el conjunto de las localizaciones siguen una distribución conocida y por tanto que las áreas de campeo se basan en una forma definida. Estos modelos incorporan también el concepto de “centro de actividad”, calculado como la media de las coordenadas x e y , y rodeado por áreas concéntricas en las que la probabilidad de encontrar al animal decrece (Hayne 1949). Inicialmente se propuso que estas áreas concéntricas fuesen de forma circular, asumiendo que la distribución de probabilidad de las localizaciones era de tipo normal (Dice y Clark 1953), pero pronto se les dio un poco más de flexibilidad al asumir para ellas una forma elíptica (Jennrich y Turner 1969). Este último modelo (**Estimador de Jennrich-Turner**) asume que la distribución de probabilidad de las localizaciones es de tipo normal bivariada, lo que implica que los animales se mueven aleatoriamente por el área de campeo con una mayor probabilidad de

localización en el centro de actividad. A partir de este centro se define una elipse que incluye el 95% (u otro porcentaje deseado) de las observaciones y que será el área de campeo. De esta forma la estima del área de campeo se hace independiente del número de localizaciones.

Varias modificaciones se han hecho sobre la base de este modelo, como por ejemplo el **Estimador normal bivariado ponderado** (Samuel *et al.* 1985), que da más peso a las localizaciones que están cerca de la media de la distribución –centro de actividad- y menos a las que quedan más lejanas, de forma que los outliers apenas afectan a la estima. Otra variación la desarrollaron Don y Rennolls (1983) al incorporar la posibilidad de incluir varios puntos de actividad de localización conocida (como por ejemplo la madriguera) alrededor de los cuales se asume una distribución circular normal.

En cualquier caso los modelos paramétricos no parecen describir correctamente los movimientos naturales de los animales (White y Garrott 1990), pues el movimiento que asumen los modelos de distribución normal bivariada son de tipo aleatorio, aunque además presentan una elevada tendencia a distribuirse por el centro del área de campeo. Los animales, sin embargo, no se mueve al azar, sino intencionadamente para dirigirse hacia algún recurso de su interés dentro del área de campeo. Y tampoco hay ninguna razón biológica para pensar que los animales van a pasar la mayor parte del tiempo en el centro exacto de su área de campeo, ni que esta vaya a tener forma de elipse.

3) Modelos no paramétricos:

A diferencia de los modelos paramétricos, los no paramétricos no asumen una forma determinada para las áreas de campeo sino que arrojan formas irregulares y basan sus estimas en la “distribución de uso”, conocida en inglés con el término “utilization distribution” (UD) (Jennrich y Turner 1969; Van Winkle 1975). Esta función relaciona el área estimada con la frecuencia de ocurrencia o intensidad de uso, de manera que evalúa la probabilidad de encontrar un animal en cada punto del espacio. Es importante enfatizar que los conceptos de área de campeo, distribución de uso y función de probabilidad de densidad son sinónimos (Anderson 1982), lo que nos lleva a redefinir el término de área de campeo desde un punto de vista probabilístico: “el área de campeo es la extensión de área

en la que un animal tiene una probabilidad definida de encontrarse en un momento dado” (Kernohan *et al.* 2001). Generalmente esta probabilidad de encuentro suele fijarse en el 95% (Van Winkle 1975).

Dentro de los métodos no paramétricos están aquellos que utilizan retículas, como el de la **Media Armónica** (Dixon y Chapman 1980), que superpone una retícula regular sobre el área por la que se mueve el animal y contabiliza el número de localizaciones que se han producido en cada cuadrícula. Después perfila contornos agrupando las cuadrículas que presenten igual intensidad de uso. El problema de estos métodos es la selección del tamaño de las cuadrículas y del punto de origen de la retícula, pues son parámetros críticos, y un tanto subjetivos, que a su vez afectan significativamente las estimas de las áreas de campeo (Kernohan *et al.* 2001).

Por último, entre los modelos no paramétricos destacan aquellos que se basan en el **uso de kernels** (Worton 1987). Los kernels son funciones matemáticas que permiten establecer una función de densidad o distribución de uso (UD) sobre cada punto del área, de manera que en aquellas zonas con más puntos, el kernel tendrá una mayor densidad (Worton 1989). De forma intuitiva los kernels se representan como contornos concéntricos a lo largo de los cuales la probabilidad de encontrar al animal va decreciendo hacia el exterior, con lo que la influencia de los outliers se suaviza. Esta característica hace que el uso de kernels para la estima de las áreas de campeo destaque por su capacidad de acomodación de los puntos marginales. Otras ventajas de este método son que: no impone una forma predefinida, aplica la función de densidad de utilización, permite la incorporación de varios centros de actividad, no se ve afectado por el tamaño de las cuadrículas ni el punto de origen de la gradilla y es capaz de trabajar con una tamaño muestral “accesible”. Por lo general el tamaño del área estimada mediante kernels se suele estabilizar con menos de 50 localizaciones por individuo (Kernohan *et al.* 2001), lo que resulta mucho más factible que las 100-200 localizaciones que a menudo se necesitan para que la superficie se estabilice mediante MCP (Harris *et al.* 1990). Por otro lado, numerosos estudios parecen indicar que los kernels ofrecen estimas más precisas del área de campeo que otros métodos (Worton 1987; Worton 1989; White y Garrott 1990; Worton 1995; Seaman y Powell 1996; Seaman *et al.* 1999; Kernohan *et al.* 2001).

En los kernels, el ancho de las bandas o contornos viene definido por el *parámetro* h (smoothing parameter, en inglés). La selección del valor o valores de este parámetro es pues, crítica, y aunque existen varios métodos para su elección no está establecido aún cual es el más adecuado (Silverman 1986; Worton 1989; Kernohan *et al.* 2001). Los métodos más usados son los siguientes (Horne y Garton 2006a):

$H_{ref} = H_{opt} \rightarrow$ ancho de banda óptimo o de referencia. Estima el ancho de banda ideal para una distribución conocida, en este caso asume una distribución de tipo normal bivariada (Silverman 1986). Este método tiende a dar valores altos de h con lo que homogeneiza la densidad y se pierde detalle (oversmooths) (Worton 1995; Seaman y Powell 1996; Seaman *et al.* 1999).

$H_{lscv} = H_{cv} \rightarrow$ ancho de banda elegido mediante el método de validación cruzada de mínimos cuadrados (*least squares cross-validation*). No asume ninguna distribución. Estima un ancho de banda que minimiza el error entre la densidad estimada y la real (Silverman 1986). Es el método actualmente recomendado en la literatura (Seaman *et al.* 1999). Aún así presenta los inconvenientes de ser muy variable y de tender a dar valores bajos de h , con lo que aumenta tanto el detalle que los contornos pueden llegar a disgregarse entorno a localizaciones aisladas (undersmooths).

Existen además otros métodos como el de la validación sesgada cruzada (*biased cross-validation*), que parece dar valores medios de h (Rodgers y Carr 1998), pero apenas ha sido probado su uso en estimas de área de campeo. Otro método es la validación cruzada de la probabilidad (*likelihood cross-validation*), que aunque parece dar las estimas más ajustadas y ser menos variable (Horne y Garton 2006a), sin embargo no está implementado en la mayoría de los programas de software para el análisis de las áreas de campeo.

La estimación del área de campeo mediante el uso de kernels ofrece además la posibilidad de usar *kernels fijos*, que aplican el mismo valor de h en todo el área, o *kernels adaptativos*, que aplican distintos valores de ancho de banda para cada observación, siendo este mayor en áreas con menos densidad de observaciones (bandas más separadas) que en áreas con más densidad (bandas más juntas) (Worton 1989).

La opinión de los expertos acerca de cual de las alternativas y combinaciones expuestas es la más adecuada ha ido variando con el tiempo. Contrariamente a las expectativas iniciales (Worton 1989), parece que la aplicación de los kernels fijos combinada con la selección del parámetro h (smoothing factor) mediante least squares cross-validation es el método que da unas estimaciones más ajustadas y precisas del área de campeo (Worton 1995; Seaman y Powell 1996; Seaman *et al.* 1999).

2.3.3. Selección del modelo más adecuado

Como se acaba de ver la disponibilidad de modelos para el análisis de las áreas de campeo es muy amplia, con lo que la elección de cuál de ellos aplicar es difícil. La descripción metodológica de los modelos presentados en esta revisión parece inclinar la balanza a favor del uso de los estimadores basados en el uso de kernels por las ventajas más arriba enumeradas, sin embargo además de valorar las cuestiones metodológicas y las asunciones (o restricciones) de cada uno, hay que tener en cuenta que el criterio fundamental en la elección del modelo más adecuado debería ser el *ajuste* del modelo particular al área de campeo real.

Con este fin, varios autores (Boulanger y White 1990; Worton 1995; Seaman *et al.* 1999) han realizado simulaciones por ordenador en las que han generado un área de campeo conocida sobre la que han probado y comparado el ajuste de varios modelos, pero todos estos estudios demuestran que en última instancia el ajuste de cada modelo particular depende de las características de la distribución de las observaciones del animal en su área de campeo (Kernohan *et al.* 2001; Horne y Garton 2006b). Se pone, pues, de manifiesto que no se puede hablar del modelo más adecuado en términos generales, sino del que mejor se ajuste a cada conjunto de datos en particular.

Frente a esta realidad Horne y Garton (2006) han desarrollado recientemente un protocolo para elegir el modelo que mejor se ajusta a un conjunto particular de observaciones. El objetivo es minimizar la distancia Kullback-Leibler (KL), término procedente de la teoría de la información, que se describe como medida de la discrepancia

o pérdida de información entre un modelo o distribución ajustado y el real. Estos autores han desarrollado una aplicación (HOMERANGESELECT) en la que se contrastan seis modelos teóricos y se compara su ajuste con el conjunto de observaciones de interés (el conjunto de radiolocalizaciones de un individuo). Los modelos que se evalúan son: distribución normal bivariada, kernels fijos, kernels adaptativos, distribución circular normal para dos centros de actividad, distribución normal bivariada para dos centros de actividad y distribución bivariada exponencial para describir una distribución uniforme. Aquel modelo con una menor distancia KL será el que presente un mejor ajuste para ese conjunto de datos en particular (Horne y Garton 2006b).

2.3.4. El modelo elegido

En este estudio hemos decidido seguir la aproximación de Horne y Garton (2006) por su objetividad y rigor científico para conocer qué modelo, de todos los disponibles, es el que mejor se adapta a la distribución de puntos de cada animal. La tabla de resultados (Tabla 4-1) muestra que en 12 de los 13 casos la distribución real de los puntos se ajusta mejor a la distribución generada por la aplicación de kernels que a la generada por el resto de los modelos. Dentro de los kernel, ninguno de los dos tipos (fijos vs. adaptativos) resultó ser consistentemente mejor. Sólo un individuo (nº 6 de Peñalara) parece presentar un uso homogéneo de su espacio.

ID	PEÑALARA										SIERRA NEVADA			
	1	2	3	5	6	7	8	9	10		1	2	3	4
Nº localizaciones	23	37	33	39	38	8	25	34	40		35	83	78	16
Nomal bivariada	270	596	529	1105	635	158	394	663	581		462	1506	1395	262
Nor. biv. circular	264	616	519	872	633	0	396	689	581		461	1518	1313	251
Nor. biv. con 2 centros	285	616	529	1025	646	308	417	654	590		497	1472	1367	262
Exponencial biv.	266	611	537	859	625	149	413	691	583		498	1522	1428	257
Kernel fijo	255	586	515	633	637	143	394	543	579		438	1464	1315	251
Kernel adaptativo	254	585	518	632	640	144	394	541	573		439	1457	1308	252

Tabla 4-1.- Distancias Kullback-Leibler calculadas con la aplicación HomeRangeSelect (Horne y Garton 2006) entre la distribución real de los puntos y la generada por varios modelos en la estima del área de campeo. Los modelos aquí contrastados son: distribución normal bivariada, distribución normal circular, distribución normal bivariada con dos centros de actividad, distribución exponencial bivariada (refleja uso uniforme del espacio), kernels fijos y kernels adaptativos. En negrita se indica el modelo con mejor ajuste (menor distancia KL) para el conjunto de datos de cada individuo radiomarcado.

En cuanto a la elección del parámetro h (smoothing parameter) decidimos usar el método de least squares cross-validation (lscv) pues en principio se presenta como el más preciso (Worton 1995; Seaman y Powell 1996; Seaman *et al.* 1999).

No obstante, y a pesar de todos estos esfuerzos por seleccionar objetivamente el método más adecuado para la estimación de las áreas de campeo, también calcularemos éstas mediante el clásico método del polígono mínimo convexo (MCP) para poder compararlas con otros estudios (Harris *et al.* 1990). Los polígonos no se construyeron a partir del 100% de las radiolocalizaciones de cada animal, sino a partir 95% de los puntos más próximos a la media aritmética de todo el conjunto de puntos (fixed amean), con el fin de dejar los outliers fuera del área delimitada por el polígono.

2.3.5. Elección del porcentaje de UD para la estima del área de campeo mediante kernels

En la aplicación de los kernels, la delimitación del área de campeo se realiza habitualmente a partir del 95% o el 90% de la distribución de utilización (UD). De este modo se define un área donde la probabilidad de encontrar al animal es de un 95% (ó 90%), excluyendo así los desplazamientos exploratorios y excursiones ocasionales fuera de la misma (Anderson 1982; Worton 1987; White y Garrott 1990; Kenward 2001). Sin embargo, no hay ninguna asunción que implique que la elección del porcentaje de la UD utilizado haya de ser por defecto de este valor. En este sentido, Seaman *et al.* (1999:741) indican que “si bien la mayoría de los estudios consideran el 95% de la UD, también el área periférica es la que tiene menos localizaciones para apoyar la estima, menos significado biológico para el animal y la mayor probabilidad de influenciar los resultados”, por lo que a continuación recomiendan que estudios futuros deberían centrarse más en el interior del área de campeo del animal. Anderson (1982) también apoya la idea de reducir el porcentaje de la UD utilizado para obtener áreas de campo más precisas.

En este estudio hemos realizado un examen previo de los datos definiendo las áreas de campeo con distintos niveles de probabilidad de encuentro (95%, 90% y 85%) (Tabla 4-2). Los contornos formados con el 95% y el 90% de la UD incluyeron zonas de transición

entre localizaciones demasiado amplias, lo que produjo estimas muy exageradas del área de campeo. La eliminación de estos contornos más externos supone una reducción media del área de campeo de hasta el 40% ($40.8 \pm 11\%$ para los datos de Peñalara y $39.1 \pm 6.1\%$ para los de Sierra Nevada) y sin embargo la pérdida de información, medida como el número de localizaciones no incluidas en el contorno del 85% es mínima ($3.8 \pm 3\%$ para Peñalara y $5.7 \pm 5\%$ para Sierra Nevada). En vista de estos resultados, y siguiendo las indicaciones de Seaman *et al.* (1999) decidimos trabajar con las estimas de las áreas de campeo formadas con el 85% de la UD, por su mejor ajuste y para eliminar la falta de fiabilidad de las estimaciones de los contornos más externos (Anderson 1982; Kernohan *et al.* 2001).

PEÑALARA		95%	90%	85%	Dif	Dif (%)
1	N	23	23	21	2	8.7
	Area	384	276	201	183	47.7
	%	100	72	52	48	47.7
2	N	36	36	35	1	2.8
	Area	3535	2510	1888	1647	46.6
	%	100	71	53	47	46.6
3	N	33	33	33	0	0.0
	Area	3069	2493	2131	939	30.6
	%	100	81	69	31	30.6
5	N	38	38	37	1	2.6
	Area	4906	3512	2699	2207	45.0
	%	100	72	55	45	45.0
6	N	38	38	36	2	5.3
	Area	5105	4156	3542	1563	30.6
	%	100	81	69	31	30.6
7	N	7	7	7	0	0.0
	Area	6628	5328	2504	4124	62.2
	%	100	80	38	62	62.2
8	n	25	25	24	1	4.0
	Area	3078	2423	2059	1020	33.1
	%	100	79	67	33	33.1
9	n	33	33	32	1	3.0
	Area	3303	2656	2244	1060	32.1
	%	100	80	68	32	32.1
10	n	40	40	37	3	7.5
	Area	1397	1060	844	553	39.6
	%	100	76	60	40	39.6

S.NEVADA		95%	90%	85%	Dif	Dif (%)
1	n	35	34	34	1	3
	Area	698	535	447	252	36
	%	100	77	64	36	36
2	n	81	77	74	7	9
	Area	6819	4932	3918	2901	43
	%	100	72	57	43	43
3	n	78	77	69	9	12
	Area	5340	3780	2907	2433	46
	%	100	71	54	46	46
4	n	16	16	16	0	0
	Area	3197	2548	2166	1031	32
	%	100	80	68	32	32

Tabla 4-2.- Comparativa de las estimas del área de campeo utilizando distintos porcentajes de la distribución de utilización (95%, 90% y 85% UD) para los nueve individuos radiomarcados en Peñalara (a la izquierda) y los cuatro de Sierra Nevada (arriba). Los parámetros que se comparan son: número de localizaciones incluidas dentro de cada contorno (N), superficie en m delimitada por cada contorno (Area) y porcentaje de ocupación respecto del contorno de 95%. Se muestra también la diferencia (Dif) de estos parámetros entre el contorno a 95% y el 85%, y esta diferencia expresada en porcentaje (Dif %).

2.3.6. Delimitación de los centros de actividad o core areas

El área de campeo de un animal no es un trozo de tierra homogénea en la que los recursos se reparten uniformemente, sino que estos están dispersos, agregados, o siguiendo cualquier otra distribución. Asimismo, el patrón de uso que un animal hace de su área de campeo no es uniforme, sino que la intensidad de uso es heterogénea, y se concentra en aquellas zonas que contienen los recursos (alimento, refugio, madriguera, etc...). Estas pequeñas áreas de más intensidad se conocen como centros de actividad o core areas, (Samuel *et al.* 1985; Tellería 1986; Kernohan *et al.* 2001). A menudo, la delimitación de éstas áreas de máxima actividad es más útil que la delimitación del área de campeo total. Así, puede ser que el número de centros de actividad o la posición relativa de éstos sea distinto entre individuos o especies, y sin embargo tales diferencias se enmascaran cuando se comparan las áreas de campeo totales. Puede ocurrir también que aunque las áreas de campeo de distintos individuos solapen, las áreas de actividad sean mutuamente excluyentes (Samuel *et al.* 1985; Harris *et al.* 1990). Por tanto la delimitación de los centros de actividad es de vital importancia para el estudio de las interacciones entre individuos y con su entorno.

Existen distintos métodos para delimitar éstas áreas de máxima actividad. Las aproximaciones más tradicionales las definen como el área que queda encerrada por el contorno formado por el 50% de la UD (Blundell *et al.* 2001; Endries y Adler 2005), pero este es un porcentaje totalmente arbitrario y por tanto esta aplicación no tiene ninguna justificación ni sentido biológico. En su lugar, nosotros preferimos seguir un procedimiento basado en el protocolo de Wray *et al.* (1992): para cada individuo estimamos la superficie encerrada por los contornos kernel formados por el 10 al 90% de la UD, en incrementos de 10%. A continuación calculamos la diferencia entre las superficies de contornos sucesivos, y fijamos la delimitación del core area en el contorno interior del par de contornos sucesivos cuya diferencia entre áreas sea mayor. En la Tabla 4-3 se resumen éstos cálculos y se indica en negrita el porcentaje de la UD utilizado en cada animal para definir su área de máxima actividad.

PEÑALARA	1		2		3		5		6		7		8		9		10	
% UD	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%
90	276		2510		2493		3555		4156		5328		2423		2656		1060	
80	154	56	1465	58	1729	69	2140	60	3085	74	3905	73	1751	72	1908	72	694	65
70	100	65	960	66	1301	75	1387	65	2381	77	2951	76	1316	75	1379	72	471	68
60	63	63	694	72	982	75	895	65	1838	77	2110	71	1005	76	983	71	310	66
50	41	65	488	70	743	76	609	68	1366	74	1520	72	769	77	738	75	212	68
40	27	65	357	73	500	67	429	71	1014	74	1070	70	562	73	506	69	129	61
30	15	57	242	68	329	66	250	58	700	69	753	70	393	70	354	70	69	53
20	9	58	150	62	194	59	145	58	426	61	412	55	247	63	196	56	37	54
10	4	45	60	40	86	44	84	58	182	43	158	38	93	38	87	44	15	40

S.NEVADA	1		2		3		4	
% UD	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%
90	535		4932		3780		2548	
80	383	72	3228	65	2316	61	1848	73
70	298	78	2201	68	1598	69	1363	74
60	229	77	1512	69	1057	66	1018	75
50	177	77	999	66	660	62	727	71
40	131	74	617	62	416	63	520	71
30	93	71	364	59	229	55	324	62
20	57	61	147	40	90	39	192	59
10	22	38	39	26	25	28	85	44

Tabla 4-3.- Área (m²) delimitada por 10-90% de la UD y diferencia del área entre cada contorno y su inmediato exterior expresada como porcentaje, para cada individuo de Peñalara (arriba) y de Sierra Nevada (izquierda). En negrita se destacan los porcentajes que reflejan una mayor diferencia de área entre pares de contornos e indica el porcentaje de la UD que delimita el centro de máxima actividad (core area).

2.3.7. Métodos estadísticos

Dadas las características de los datos se empleó estadística no paramétrica. Las comparaciones del tamaño de las áreas de campeo, los porcentajes de solapamiento, etc... entre sexos y entre localidades se analizaron mediante el test estadístico de la U de Mann-Whitney de dos colas. La relación de las variables mencionadas frente al peso de los individuos se exploró a través de correlaciones de Spearman. Y las diferencias en las superficies de las áreas de campeo individuales estimadas mediante kernels y mediante polígonos se evaluaron a través del test de Wilcoxon para muestras pareadas (Siegel y Castellan 1988; Fowler *et al.* 1998). El test de la Z de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras evalúa la hipótesis de que dos muestras independientes proceden de la misma distribución. A diferencia del test de la T de Student o del de la U de Mann-Whitney que evalúan diferencias en la posición de las muestras (diferencias en las medias o en las medianas, respectivamente), el test de Kolmogorov-Smirnov es también sensible a cualquier tipo de diferencia en la forma de las distribuciones de las dos muestras (i.e.

diferencias en la dispersión, curtosis, etc...) (Siegel y Castellan 1988). Este estadístico se utilizó para estudiar las interacciones dinámicas entre pares de individuos.

En todos los análisis se consideraron diferencias significativas a partir de un valor de $p < 0.05$. Se utilizó el programa estadístico Statistica v.6.0. (StatSoft 2001).

3. RESULTADOS

3.1. TAMAÑOS MUESTRALES E INDEPENDENCIA DE LAS LOCALIZACIONES

En la colonia de Sierra Nevada se tomó entre una y seis radiolocalizaciones por día para cada animal ($N = 4$), excepto para un día de seguimiento intensivo que se monitoreó a los animales cada 3h durante 24h (total 8 localizaciones por animal). En total se realizaron 212 localizaciones, con una media (\pm s.d.) de 53 ± 32.8 localizaciones por individuo. La distribución de las radiolocalizaciones obtenidas se puede ver en la Figura 4-4, donde cada color representa un individuo.

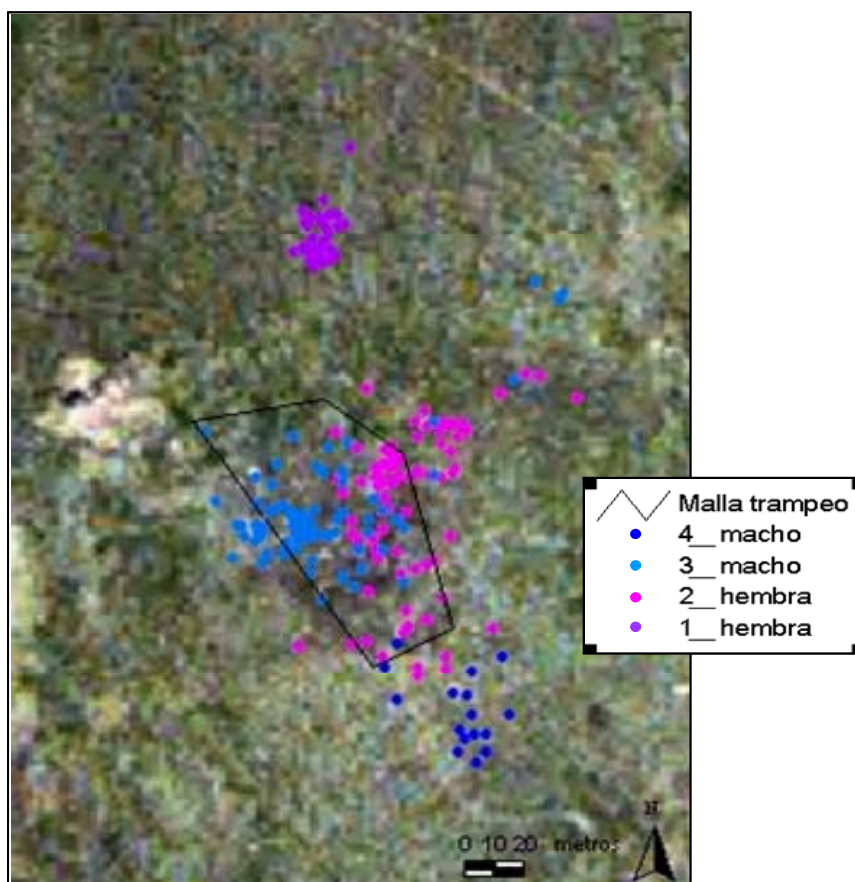


Figura 4-4.- Radiolocalizaciones de los cuatro topillos nivales marcados en la colonia de S.Nevada.

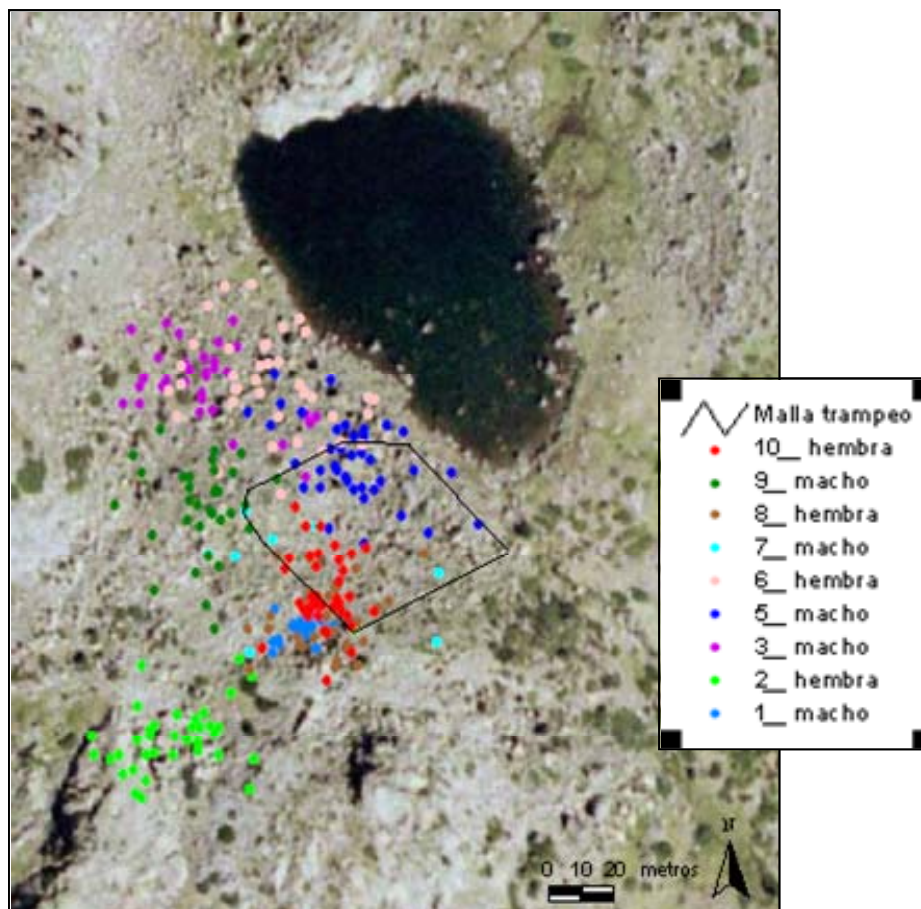


Figura 4-5.- Radiolocalizaciones de los nueve topillos navales marcados en la colonia de Peñalara.

En la colonia de Peñalara se tomó entre una y cuatro localizaciones por día para cada animal ($N = 9$), de las cuales entre la mitad y un tercio se hicieron por la noche para no restringir la estima del área de campeo a actividades o comportamientos que solo se realicen durante el día. En total se realizaron 277 localizaciones, con un número medio (\pm s.d.) de radiolocalizaciones por animal de 30.6 ± 10.3 . La distribución de las radiolocalizaciones obtenidas se puede ver en la Figura 4-5, donde cada color es un individuo.

Luque-Larena *et al.* (2004) determinaron en un estudio piloto que con aproximadamente 20 radiolocalizaciones por individuo, tomadas en intervalos de 4 ó más horas, se llega a definir entre el 80-85% del área de campeo en topillos navales. Con la excepción del topillo nº 7 de Peñalara, el resto de los individuos de este estudio tienen más de 20 localizaciones, por lo que consideramos el tamaño muestral adecuado para definir las áreas de campeo. Por otro lado, la independencia entre estos puntos es requisito para la

correcta estimación del área de campeo por cualquiera de los métodos descritos previamente. Actualmente existen dos escuelas en este respecto. La primera de ellas defiende que las localizaciones tienen que ser necesariamente independientes desde el punto de vista estadístico, es decir que los datos no tienen que estar autocorrelacionados serialmente (i.e. la localización en el tiempo $t+1$ no depende de la localización en el tiempo t) (Schoener 1981; Swihart y Slade 1985); la segunda defiende que los datos no necesitan ser estadísticamente independientes, sino biológicamente independientes, lo que se consigue con intervalos de tiempo lo suficientemente amplios como para permitir que el animal se desplace desde cualquier punto de su área de campeo a otro punto cualquiera entre una localización y la siguiente (Lair 1987). Según los índices de Schoener (1981) y de Swihart y Slade (1985), no todas las radiolocalizaciones de este estudio son estadísticamente independientes. Sin embargo, los topillos tienen áreas de campeo pequeñas en relación a su capacidad de movimiento (Madison 1985), y el intervalo mínimo de 4-6 horas entre tomas permite que un topillo nival atraviese su área de campeo sobradamente. Esto implica que contamos con radiolocalizaciones biológicamente independientes (Lair 1987). Eliminar la autocorrelación estadística no solo implicaría la reducción del tamaño muestral, sino que también limita el significado biológico del análisis, pues, al eliminar localizaciones repetidamente usadas, se pierde información del patrón de uso interno que un animal realiza en su área de campeo (de Solla *et al.* 1999; Blundell *et al.* 2001). Por estas razones aquí optamos por la independencia biológica de los datos en lugar de la estadística, al igual que viene siendo la tendencia reciente en estudios de ecología (Barg *et al.* 2005).

3.2. TAMAÑO DE LAS ÁREAS DE CAMPEO

Según se ha explicado y justificado más arriba, las áreas de campeo se estimaron mediante kernels a partir del 85% de la UD –distribución de utilización-. El tipo de kernel aplicado –fijo o adaptativo- viene especificado en la Tabla 4-1 según idoneidad para cada individuo. Y el parámetro h se calculó mediante $lscv$. Con estas directrices, las hembras de Peñalara mostraron áreas de campeo que oscilaron entre los 844 y los 3542 m², con una media de 2083 ± 1111 m², y no mostraron diferencias significativas (Mann-Whitney U

Test = 8; $p = 0.413$; n.s.) con las áreas de campeo de los machos, que variaron entre los 201 y los 2699 m², y presentaron un valor medio de 1956 ± 1006 m² (c.f. Tabla 4-4). Las áreas calculadas mediante polígonos arrojaron una media de 1413 ± 557 m² para las hembras (rango: 893 - 2146 m²), y de 1196 ± 607 m² para los machos (rango: 152-1661 m²), sin presentar diferencias significativas entre los sexos en Peñalara (Mann-Whitney U Test = 10; $p = 1.09$; n.s.).

En Sierra Nevada, las estimas de superficie de las áreas de campeo para las hembras fue de 2182 ± 2454 (rango: 447 – 3918 m²) mediante kernels y de 2773 ± 3569 (rango: 249 - 5297 m²) mediante MCP. Los valores respectivos para los machos fueron de 2537 ± 524 (rango: 2166 – 2907 m²) mediante kernels y de 2449 ± 2021 (rango: 1020 – 3878 m²) mediante polígonos. Por ninguno de los dos métodos hubo diferencias significativas de tamaño entre los sexos (Mann-Whitney U Test; $p > 0.05$ en todos los casos).

Si se compara la superficie estimada para las áreas de campeo obtenidas por las dos técnicas propuestas (kernels y MCP -polígonos-), observamos que las estimas mediante kernels arrojan áreas significativamente mayores que los polígonos en Peñalara (Wilcoxon paired test, $Z = 2.66$; $p = 0.015$), pero éstas diferencias desaparecen en Sierra Nevada (Wilcoxon paired test, $Z = 0.35$; $p = 0.7$) (Figura 4-6).

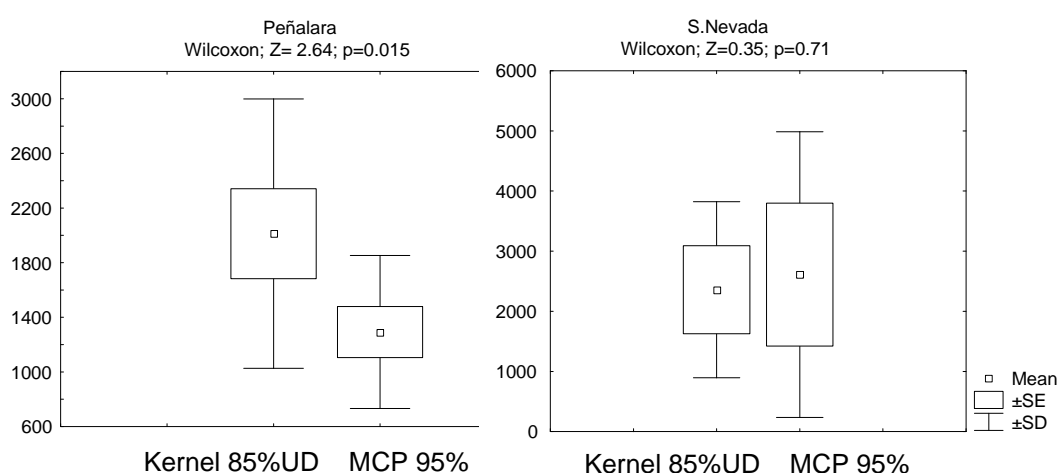


Figura 4-6.- Diagrama de cajas y bigotes representando la diferencia en la superficie individual estimada de las áreas de campeo mediante kernels y polígonos (MCP), para los neverones de Peñalara (izquierda) y de Sierra Nevada (derecha). Se aplicó un test de Wilcoxon para muestras pareadas.

Dado que según estos datos la superficie estimada para las áreas de campeo de machos y hembras no fue diferente para cada localidad, se agrupó por la variable “sexo” y se comparó entre localidades. El test de la U de Mann-Whitney reveló que tampoco hay diferencias entre localidades en las dimensiones del área de campeo estimada mediante kernels (Peñalara: $2012 \pm 987 \text{ m}^2$; S.Nevada: $2359 \pm 1463 \text{ m}^2$).

3.3. TAMAÑO DE LOS CENTROS DE MÁXIMA ACTIVIDAD

La delimitación del centro de máxima actividad de cada individuo viene dado por el contorno señalado en negrita en la Tabla 4-3, y el tipo de kernel aplicado (fijo o adaptativo) está tomado de la Tabla 4-1.

El tamaño de los centros de máxima actividad (core areas), áreas que agrupan el mayor número relativo de radiolocalizaciones en el menor contorno, presentó rangos muy amplios tanto en las hembras, como en los machos (c.f. Tabla 4-4), pero las diferencias intersexuales no fueron significativas en Peñalara (Mann-Whitney U Test = 8; Hembras: $776 \pm 737 \text{ m}^2$; Machos: $467 \pm 265 \text{ m}^2$; $p = 0.73$, n.s.) ni en Sierra Nevada (Mann-Whitney U Test = 1; Hembras: $905 \pm 858 \text{ m}^2$; Machos: $1308 \pm 410 \text{ m}^2$; $p = 0.67$, n.s.). Las diferencias entre localidades tampoco fueron significativas, puede ser que debido al bajo tamaño muestral, a pesar de que la superficie media del área de máxima actividad en S.Nevada fue casi el doble que en Peñalara (Mann-Whitney U Test = 10; Peñalara: $604 \pm 515 \text{ m}^2$; S.Nevada: $1107 \pm 597 \text{ m}^2$; $p = 0.26$).

	ID	Sexo	Tipo de kernel	parametro h	Area campeo 85% UD		Area máxima actividad		% en el área máx. actividad		
					n	area (m2)	n	area (m2)	%uso	%territorio	%intensidad uso
P E Ñ A L A R A	1	macho	Adaptive kernel	0.442	21	201	11	27	52	13	4.0
	2	hembra	Adaptive kernel	0.525	35	1888	20	357	57	19	3.0
	3	macho	Fixed kernel	0.467	33	2131	22	713	67	33	2.0
	5	macho	Adaptive kernel	0.551	37	2699	21	443	57	16	3.5
	6	hembra	Fixed kernel	0.585	36	3542	30	1813	83	51	1.6
	7	macho	Fixed kernel	0.677	7	2504	5	557	71	22	3.2
	8	hembra	Fixed kernel	0.627	24	2059	18	769	75	37	2.0
	9	macho	Adaptive kernel	0.599	32	2244	20	597	63	27	2.3
	10	hembra	Adaptive kernel	0.291	37	844	20	163	54	19	2.8
	S.	hembra	Fixed kernel	0.528	34	447	30	298	88	67	1.3
S. N. E. V. A.	2	hembra	Adaptive kernel	0.218	74	3918	56	1512	76	39	2.0
	3	macho	Adaptive kernel	0.168	69	2907	60	1598	87	55	1.6
	4	macho	Fixed kernel	0.590	16	2166	13	1018	81	47	1.7

%uso %territorio %intensidad uso

Tabla 4-4.- Porcentaje del territorio (área de campeo) contenido dentro del área de máxima actividad (% territorio), porcentaje del total de radiolocalizaciones contenidas dentro del área de máxima actividad (% uso), y una medida relativa de la intensidad de uso del área de máxima actividad (% uso / % territorio).

El porcentaje del territorio contenido en el centro de máxima actividad (% territorio) no varió entre sexos, pero sí entre localidades (Mann-Whitney U Test = 2; Peñalara: $26.5 \pm 12 \text{ m}^2$; S.Nevada: $52 \pm 12 \text{ m}^2$; $p = 0.011$). Así mismo, el tiempo que cada animal pasa dentro de su área de máxima actividad, medido como porcentaje de uso (% uso) no difirió entre machos y hembras, pero sí entre localidades (Mann-Whitney U Test = 1; Peñalara: $64 \pm 10 \text{ m}^2$; S.Nevada: $83 \pm 6 \text{ m}^2$; $p = 0.005$). Lo mismo ocurrió con la intensidad relativa de uso del área de máxima actividad, medida como % uso / % territorio (Barg *et al.* 2005) (Mann-Whitney U Test = 2; Peñalara: $2.7 \pm 0.7 \text{ m}^2$; S.Nevada: $1.6 \pm 0.3 \text{ m}^2$; $p = 0.011$).

3.4. ÁREAS DE CAMPEO Y PESO DEL ANIMAL

Cuando los individuos de un sexo han de enfrentarse entre sí para conseguir acceso al sexo opuesto, es esperable que en el sexo que compite (generalmente los machos) los animales más grandes tengan mayor ventaja y que por tanto vaya evolucionando hacia un mayor tamaño corporal por selección sexual. En este sentido se espera que el dimorfismo sexual del tamaño esté correlacionado con el grado de competencia intrasexual, que a su vez está íntimamente ligado al sistema de apareamiento (Gaulin y FitzGerald 1988; Heske y Ostfeld 1990; Boonstra *et al.* 1993). Dentro de este contexto evaluamos el peso medio de cada sexo en cada localidad.

En ninguna de las dos localidades los animales marcados mostraron diferencias intersexuales en el peso (Peñalara: Hembras = $48.3 \pm 8.5\text{g}$ (N = 4); Machos = $56 \pm 11.57\text{g}$ (N = 5). S.Nevada: Hembras = $34.2 \pm 5.3\text{g}$ (N = 2); Machos = $36 \pm 5.3\text{g}$ (N = 2)). Según se ha descrito en la metodología se marcó dentro de lo posible individuos adultos, y así fue en todos los casos salvo en un macho de Peñalara, que aunque con un buen tamaño (40g), según hemos visto en los análisis de clases de edad del Capítulo 2, en realidad todavía no se trata de un adulto reproductor, sino de un subadulto. Posiblemente este individuo, que dispara la varianza en el peso entre los machos, y el bajo tamaño muestral, hacen que las diferencias intersexuales en el peso se diluyan en Peñalara. De hecho, cuando se comparan todos los machos y hembras adultos (identificados por signos evidentes de reproducción) capturados en esa colonia a lo largo de todo el trabajo de campo de la Tesis (2004-2006), sí

que existen diferencias significativas (Mann-Whitney U Test = 277; Hembras = $51.7 \pm 7.1g$ (N = 23); Machos = $60 \pm 5g$ (N = 19); $p = 0.004$). En la colonia de S.Nevada sigue sin haber diferencias intersexuales en el peso aunque se aumente el tamaño muestral (Mann-Whitney U Test = 80.5; Hembras = 43 ± 8 (N = 18); Machos = 44 ± 6 (N = 13); $p = 0.167$; n.s.).

En cualquier caso, los valores que tenemos que considerar aquí son los de los individuos marcados con collar y entre estos no hay diferencias en el peso entre machos y hembras en ninguna de las localidades. El tamaño de las áreas de campeo y de los centros de máxima actividad tampoco se correlacionaron con el peso de estos individuos en ningún caso (ni machos, ni hembras, ni en Peñalara, ni en Sierra Nevada) (Spearman correlation; $p > 0.05$ en todos los casos).

3.5. SOLAPAMIENTO ESPACIAL ENTRE ÁREAS DE CAMPEO (INTERACCIONES ESTÁTICAS)

La representación gráfica de las áreas de campeo (c.f. Figura 4-7), siguiendo la metodología y parámetros descritos más arriba, nos permite ver la forma y situación relativa del área de campeo de cada animal con respecto a las áreas de campeo de otros individuos.

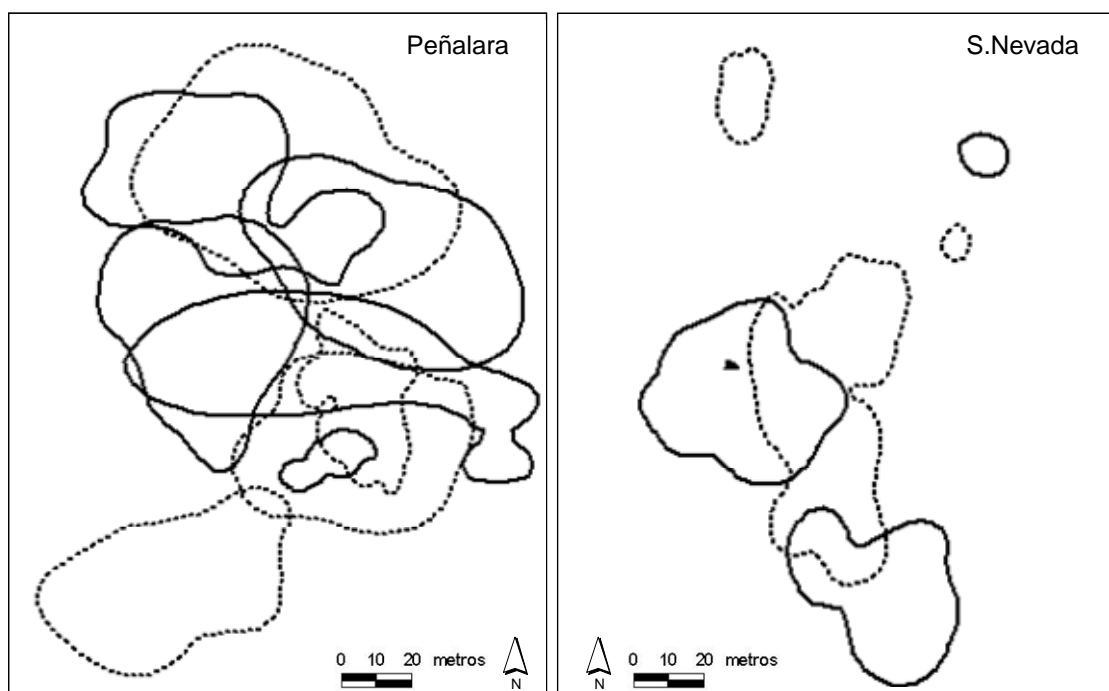


Figura 4-7.- Áreas de campeo de las hembras (líneas discontinuas) y los machos (líneas continuas) en las parcelas de estudio. Las áreas de campeo están estimadas a partir del 85% de la UD –distribución de uso–.

Como primera aproximación al conocimiento de la superficie compartida entre individuos se calculó para cada localidad el porcentaje total del área de campeo compartida entre individuos del mismo sexo y del sexo opuesto, con respecto al total de la superficie ocupada por cada sexo, obtenida como el sumatorio de las áreas de campeo, contando una única vez las áreas superpuestas (Tabla 4-5). En la colonia de Peñalara el porcentaje más bajo de solapamiento entre áreas corresponde con el observado entre hembras (10%), seguido del porcentaje ocupado entre machos (31%), y por último del porcentaje ocupado por individuos de distinto sexo (46-48%). En Sierra Nevada se mantiene el mismo patrón, pero debido al bajo tamaño muestral las diferencias son más acusadas, de modo que no se observa ningún solapamiento entre individuos del mismo sexo, y el solapamiento intersexual también es más bajo que en Peñalara.

		Peñalara	S.Nevada
Superficie total (m ²) ocupada por:	Hembras (1)	7585	4364
	Machos (2)	7388	5073
	Ambos sexos	11448	7955
Superficie total (m ²) solapada entre:	Hembras	748	0
	Machos	2314	0
	Ambos sexos	3525	1483
Porcentaje del territorio de: (*con respecto de 1 ó 2)	Hembras cubierto por hembras (*1)	10	0
	Machos cubierto por machos (*2)	31	0
	Hembras cubierto por machos (*1)	46	34
	Machos cubierto por hembras (*2)	48	29

Tabla 4-5.- Superficie total ocupada por el sumatorio de las áreas de campeo (contando una única vez las áreas superpuestas) de cada sexo para cada localidad. Superficie total solapada y porcentaje del área de campeo de hembras y machos que está cubierto por individuos del mismo sexo y del opuesto.

En la Tabla 4-5 hemos comparado la superficie y el solapamiento de las áreas de campeo de las hembras en su conjunto con el de los machos en su conjunto. Si ahora nos centramos en Peñalara (por su mayor tamaño muestral) y reducimos la escala de observación, de modo que consideramos cada individuo como la unidad de muestreo, podemos observar en la Tabla 4-6 un resumen de los solapamientos interindividuales que se producen a nivel del área de campeo y del centro de máxima actividad. Éstos solapamientos están medidos como superficie y como porcentaje en relación al área de cada individuo.

		B								
		1m	2h	3m	5m	6h	7m	8h	9m	10h
Área de campeo	A	1m						201 (100) (10)		94 (47) (11)
		2h						56 (3) (3)		
		3m			583 (27) (22)	1698 (80) (48)			306 (14) (14)	
		5m		x		1473 (55) (42)	467 (17) (19)		139 (5) (6)	127 (5) (15)
		6h		x	x		41 (1) (2)		366 (10) (16)	
		7m			x	x		523 (21) (25)	996 (40) (44)	464 (19) (55)
		8h	x	x			x		13 (1) (1)	691 (34) (82)
		9m		x	x	x	x	x		
		10h	x		x		x	x		

		B								
		1m	2h	3m	5m	6h	7m	8h	9m	10h
Centro máxima actividad	A	1m						27 (100) (3)		7 (27) (4)
		2h								
		3m				421 (59) (23)				
		5m				135 (31) (7)				
		6h		x	x					
		7m							151 (27) (25)	
		8h	x							155 (20) (96)
		9m					x			
		10h	x					x		

Tabla 4-6.- Cuadro resumen del solapamiento del área de campeo (arriba) y del centro de máxima actividad (abajo) entre pares de individuos. Cada número en la entrada de las columnas y filas identifica a un animal y la letra *h* (hembra) o *m* (macho) indica el sexo del mismo. En las celdas se observan tres números: el primero corresponde al área común o solapada entre pares de animales, expresada en m², a continuación el primer paréntesis informa del porcentaje que éste área común supone en relación al área de campeo total del animal en la entrada "A" (filas), y el segundo paréntesis, del porcentaje que supone del área de campeo del animal en la entrada "B" (columnas).

A partir de los patrones de solapamiento entre hembras y machos que se derivan de la Tabla 4-6 observamos que ni el porcentaje, ni la superficie del área de campeo cubierta por individuos del sexo opuesto difiere entre sexos (Mann-Whitney U Test = 6; $p > 0.05$; n.s.). Sin embargo, la diferencia en el número de individuos solapantes del sexo opuesto sí rozó el límite de la significación (Mann-Whitney U Test = 1; $p = 0.07$ -para dos colas-, $p = 0.04$ -para una cola-), sugiriendo que el área de las hembras está cubierta en mayor o menor medida por la de tres machos, de media, mientras que la de los machos está cubierta por dos hembras de media. Sin embargo, el número de conespecíficos del mismo sexo con los que solapa cada individuo, no es diferente entre machos y hembras, así como tampoco lo es el porcentaje ocupado. La diferencia en la superficie solapada por individuos del mismo sexo sí es casi significativamente 2.5 veces más grande entre machos que entre hembras (Mann-Whitney U Test = 0; Hembras: $498 \pm 385 \text{ m}^2$; Machos: $1246 \pm 268 \text{ m}^2$; $p = 0.06$ -para dos colas-, $p = 0.03$ -para una cola-).

A nivel del centro de máxima actividad no se observan diferencias en el grado de solapamiento (en porcentaje, superficie o número de individuos) entre conespecíficos del mismo sexo y del opuesto en Peñalara. Sin embargo, según refleja la Figura 4-8 sí que se puede observar cómo el solapamiento de las áreas de máxima actividad está, generalmente, muy reducido, en comparación con el solapamiento que se produce entre las áreas de campeo. Esta figura compara el área común entre los distintos tipos de díadas que se pueden formar: hembra-hembra (h-h), macho-macho(m-m), o mixta, de manera que refleja el sumatorio de las áreas comunes (en metros cuadrados y en porcentajes) para cada tipo de díada.

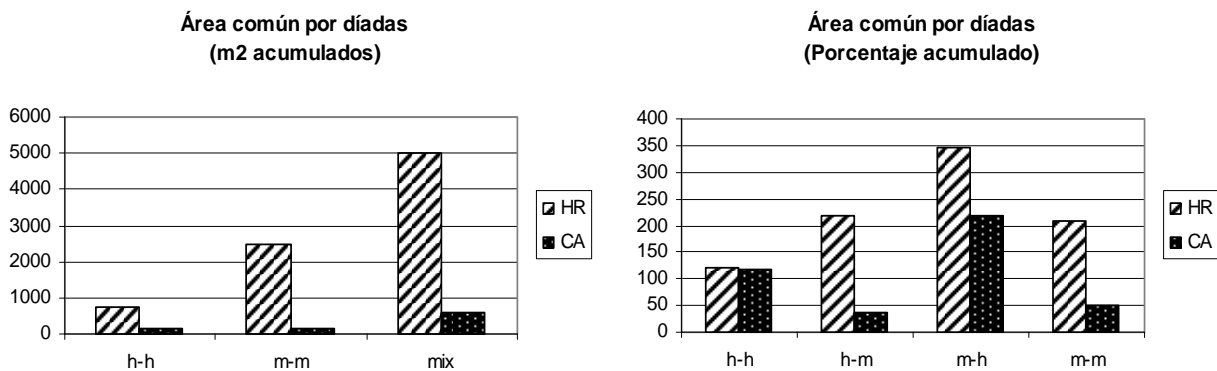


Figura 4-8.- Comparación de la superficie del área de campeo (HR) y del área de máxima actividad (CA) compartida por cada tipo de díada en Peñalara. Este área compartida se expresa en la gráfica de la izquierda como la superficie (en m²) compartida acumulada para cada tipo de díada, y en la derecha como porcentaje acumulado. Este porcentaje representa el área de campeo del sexo que aparece en primer lugar de cada díada que es "invadida" (solapada) por el área de campeo del sexo que aparece en segundo lugar. Aunque se hable de porcentaje el eje de las ordenadas supera el valor 100 (%), pues se trata de porcentaje acumulado. Las letras *h* y *m* se refieren a hembras y machos, respectivamente.

El escaso número de topillos nivales en la colonia de Sierra Nevada apenas experimenta solapamiento en sus áreas de campeo, con lo que el número de éstos eventos fue tan bajo que las posibles diferencias entre sexos no son estadísticamente analizables.

3.6. SOLAPAMIENTO TEMPORAL ENTRE ÁREAS DE CAMPEO (INTERACCIONES DINÁMICAS)

Dos animales pueden presentar una gran superficie común de sus áreas de campeo, y sin embargo a penas interaccionar entre ellos si raramente visitan el mismo sitio a la misma hora. El análisis del solapamiento temporal entre las áreas de campeo o análisis de las interacciones dinámicas, precisamente aborda este aspecto evaluando el grado de correlación entre los movimientos de los animales (Dunn 1979; MacDonald *et al.* 1980). ¿Intentan los animales mantener una distancia de seguridad los unos de los otros, o por el contrario se buscan entre sí? ¿o quizás se mueven con independencia de la posición de los otros animales?.

En este estudio, hemos evaluado la dependencia en los movimientos de pares de individuos (N = 15 pares -13 de Peñalara y 2 de S.Nevada-) que presentan áreas de campeo solapadas en alguna medida. Para ello hemos calculado la distancia euclídea entre pares de animales a partir de radiolocalizaciones tomadas simultáneamente y las hemos comparado con las “distancias aleatorias”. Admitimos como simultáneos, los pares de radiolocalizaciones que como mucho distan 30 minutos entre sus tomas, y nos referimos a estas distancias como “distancias reales”. Las distancias aleatorias fueron generadas aleatorizando el orden de las radiolocalizaciones de uno de los individuos y volviendo a calcular las distancias euclídeas. A continuación comparamos la distribución de frecuencias de las distancias reales y aleatorias mediante el test de la Z de Kolmogorov-Smirnov de dos colas. Tomamos como hipótesis nula que las dos muestras (distancias reales vs. distancias aleatorias) proceden de la misma distribución, es decir, que las distancias reales y las aleatorias no difieren. Todos los pares de animales analizados mostraron valores de $p > 0.05$, (c.f. Figura 4-9) indicando que no hay atracción ni repulsión entre los animales, sino que éstos se mueven independientemente los unos de los otros.

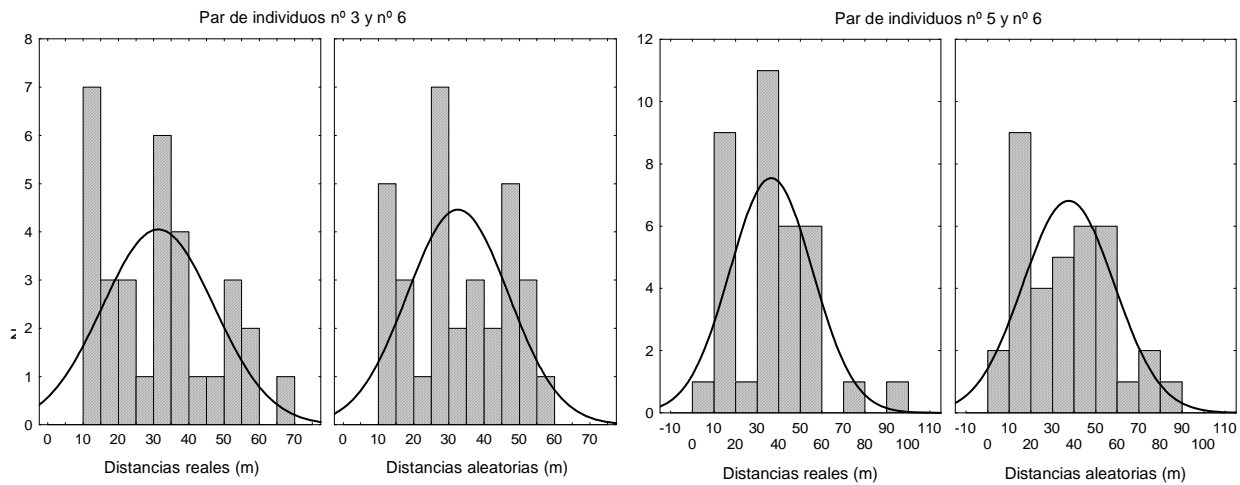


Figura 4-9.- Dos ejemplos de la distribución de frecuencias de las distancias reales y las aleatorias entre pares de animales. En todos los casos el test de Kolmogorov-Smirnov fue indicativo de que ambas distancias (reales y aleatorias) proceden de la misma distribución ($p < 0.05$).

4. DISCUSIÓN

4.1. USO DEL ESPACIO DE LOS NEVERONES EN LA COLONIA DE PEÑALARA

Inicialmente vamos a centrar la discusión sobre la colonia de Peñalara, pues disponemos de datos más robustos (al tener un mayor tamaño muestral). Después incluimos un análisis comparativo entre Sierra Nevada y Peñalara, y por último algunas cuestiones metodológicas.

El estudio de las áreas de campeo, su tamaño, solapamiento y posición relativa en combinación con otros parámetros como el peso y la condición reproductora de los individuos se emplean a menudo para inferir el sistema de apareamiento en microtininos (Ostfeld 1985; Ims 1987; Gaulin y FitzGerald 1988; Heske y Ostfeld 1990; Boonstra *et al.* 1993).

En este trabajo podemos observar, a partir de las radiolocalizaciones obtenidas para cada animal (c.f. Figuras 4-4 y 5), que la distribución de los individuos marcados en la colonia no es aleatoria, sino que hay una clara segregación y estructuración espacial de los mismos. Sin embargo, no todos los patrones de uso del espacio que hemos observado

siguen un consenso en las predicciones de Ostfeld (1985) e Ims (1987). Recordemos que, a grandes rasgos, los patrones de ocupación espacial revelaron que en la colonia de Peñalara:

- no existen diferencias intersexuales en el **tamaño de las áreas de campeo** ($2012 \pm 987 \text{ m}^2 \sim 45\text{m} \times 45\text{m}$)
- ni en los **centros de máxima actividad** ($604 \pm 515 \text{ m}^2 \sim 25\text{m} \times 25\text{m}$), aunque en ambos casos existe una gran variabilidad interindividual, lo que explica la alta dispersión de los datos entorno a la media.
- por otro lado, existe **dimorfismo sexual**, de modo que los machos de la colonia de Peñalara son de mayor tamaño que las hembras, aunque esta diferencia no fue significativa entre los animales marcados,
- y tampoco hubo **relación entre el peso de los individuos y el tamaño de su área de campeo**.
- Basándonos en el **solapamiento observado de las áreas de campeo**, cada individuo tiene acceso a 2 ó 3 conespecíficos del sexo opuesto (c.f. Figura 4-7)
- y la superficie compartida entre machos es casi 2.5 veces más que la compartida entre hembras.
- No obstante, y según se recoge en la Figura 4-8, el **solapamiento a nivel de las core areas** se reduce drásticamente en comparación con el solapamiento total. Los machos son prácticamente excluyentes entre sí, aunque son más permisivos con las hembras. Las hembras en cambio, apenas dejan acceso a los machos dentro de su core area, y entre hembras tampoco se esperaría apenas solapamiento dado el alto grado de agresividad, sobre todo a nivel intrasexual, que se conoce en esta especie (Luque-Larena *et al.* 2002). Sin embargo, en la Figura 4-8 (derecha) se puede observar un alto solapamiento del área de máxima actividad entre hembras, que es producto de un único caso formado por las hembras nº8 y nº10 cuyas áreas de campeo solapan en un 80%. Existen diversas teorías que tratan de explicar esta permisividad ocasional en especies cuyas hembras tienden a mostrar áreas excluyentes. Con frecuencia se recurre a la existencia de un vínculo de parentesco entre hembras filopátricas, bajo la hipótesis de que si el área colindante está ocupada por una hembra emparentada se reduce el riesgo de que las crías sufran agresiones por parte de otras hembras no emparentadas (Lambin y Krebs 1991; Fletcher y Boonstra 2006). Cabría pues la posibilidad de que las hembras nº8 y nº10 fuesen hermanas, pero de momento esto no

es más que una hipótesis especulativa a falta de observar más casos de solapamiento extensivo entre hembras y de los análisis genéticos correspondientes. En cualquier caso descartamos que estas hembras tengan una relación materno-filial, pues dadas las características del ciclo vital de esta especie es improbable que ambas fuesen reproductoras en la misma estación. También podría ser que el hecho de que sus áreas solapen en tanta medida se deba simplemente a que hay suficientes recursos para ambas.

4.2. INFERENCIAS SOBRE EL SISTEMA DE APAREAMIENTO

En base a los datos disponibles, podemos decir que la ausencia de parejas formadas por un macho y una hembra que presenten una clara asociación espacial (solapamiento total de sus áreas de campeo) en un territorio de uso exclusivo descartan la posibilidad de monogamia en esta población (FitzGerald y Madison 1983; Brotherton y Komers 2003). La poliginia tampoco sería indicativa de los patrones observados, pues requiere que los machos defiendan territorios excluyentes en los que monopolizan el acceso a un grupo de hembras (Emlen y Oring 1977; Ostfeld 1985), y sin embargo los territorios de los machos radiomarcados solapan extensamente. La **promiscuidad** parece ser la estrategia más acorde con los datos observados, pues los machos solapan entre sí y cubren el territorio de varias hembras, que en general tienden a excluirse entre sí, de modo que cada individuo puede tener acceso a 2 ó 3 individuos del sexo opuesto. La promiscuidad también estaría apoyada por el hecho de que entre las hembras seguidas, se ha observado una asincronía total en el estado reproductivo (Ims 1987), habiendo una hembra lactante, otra que ya había acabado de amamantar, otra con la vagina recién perforada y otra sin signos de reproducción, en el momento de la captura para la colocación del collar. Además, el análisis de las interacciones dinámicas reflejó que no existe ningún tipo de vinculación (ni repulsión) temporal entre ninguna de las parejas posibles, siendo ello indicativo de que las cópulas pueden ocurrir entre cualquier pareja, y de que aparentemente no hay guarda post-cópula, como es de esperar en la promiscuidad (Brotherton y Komers 2003). Todas estas características apoyan la idea de que esta población siga un sistema de apareamiento de tipo promiscuo, sin embargo, en esta colonia, las áreas de campeo de machos y hembras no difieren en tamaño, con lo que se está incumpliendo una de las asunciones esperadas en especies de microtininos promiscuas (Gaulin y FitzGerald 1988).

En la promiscuidad se espera un mayor tamaño de las áreas de campeo en machos para poder acceder a más hembras (Gaulin y FitzGerald 1988; Ostfeld 1990). Sin embargo, si las hembras no están muy dispersas, sino que presentan áreas adyacentes, un macho puede tener acceso a varias de ellas sin necesidad de patrullar un área excesivamente grande. En la colonia de Peñalara, la disponibilidad de alimento, que según la hipótesis de Ostfeld es el factor condicionante de la distribución de las hembras, es abundante, aunque parcheada, incluso en los meses secos de verano. Probablemente, la inmediata proximidad de la Laguna de Peñalara confiere al entorno suficiente humedad como para mantener los pastos frescos, que aunque sí amarillean en las praderas, se mantienen verdes si están parcialmente protegidos del sol por la sombra de las rocas del canchal (Obs. pers.). Además, la ausencia de ganado ovino/caprino en el Parque Natural de Peñalara elimina competidores y favorece el mantenimiento de la hierba. Estos parches de hierba verde son abundantes dentro del canchal, por lo que las hembras no necesitan alejarse mucho para localizar una fuente de alimento. Esta situación podría permitir que las hembras mantengan territorios muy próximos entre sí, generalmente excluyentes, aunque, como hemos visto, incluso hay casos en los que sus territorios solapan. De esta forma los machos pueden acceder a varias hembras sin necesidad de recorrerse amplias zonas, y la promiscuidad podría, efectivamente ser el sistema de apareamiento seguido en esta población.

Luque-Larena *et al.* (2004) también llegaron a la conclusión de que la población de topillo nival sobre la que centraron su estudio seguía un sistema de tipo promiscuo. Sin embargo, ellos sí observaron que las áreas de campeo, las cuales fueron estimadas mediante el método del polígono mínimo (MCP), eran casi cuatro veces más grandes en los machos ($\sim 5600 \text{ m}^2$) que en las hembras ($\sim 1400 \text{ m}^2$). Con los datos que disponemos no podemos interpretar a qué puede deberse esta diferencia intersexual en el tamaño de las áreas de campeo tan acusada y que nosotros no encontramos. Se podría pensar que la proporción de machos y hembras sexualmente activos en aquella población estuviese sesgada a favor de las hembras, de modo que existiría menos competencia entre los machos (Heske y Ostfeld 1990; Ostfeld 1990). En una situación así, éstos se beneficiarían al ampliar sus áreas de campeo para cubrir las de más hembras sin que por ello se viese aumentado el coste -alta agresividad intrasexual (Luque-Larena *et al.* 2001)- por el acceso a las hembras en el momento de la cópula. Sin embargo, tanto en la población de Luque-

Larena *et al.* (2004) como en la nuestra de Peñalara la proporción de sexos operativa (aquella que considera sólo los individuos adultos sexualmente activos) no difiere de 1:1, con lo que la hipótesis propuesta no se sustentaría.

4.3. USO DEL ESPACIO DE LOS NEVERONES EN LA COLONIA DE S.NEVADA

La mayor limitación que presentan los datos de Sierra Nevada es el bajo tamaño muestral, que hace que las comparaciones intersexuales no sean factibles. Aún así, el análisis conjunto de los individuos de Sierra Nevada y su comparación con las observaciones obtenidas para Peñalara arrojan resultados muy interesantes.

En primer lugar llama la atención que mientras en Peñalara la estima de las áreas de campeo mediante kernels es mayor que mediante polígonos, en Sierra Nevada se invierte este patrón, aunque la diferencia en tamaño no llega a ser significativa (c.f. Figura 4-6). Esta diferencia, que parece responder a una cuestión meramente metodológica, en realidad está poniendo de manifiesto un uso distinto del espacio entre ambas localidades de estudio. Cuando las localizaciones de un animal tienden a estar más o menos concentradas en una única área, como los animales de la colonia de Peñalara, entonces la estima del tamaño de éste área mediante kernels es mayor que mediante polígonos. Esto se debe a que los kernels confieren una zona de buffer en torno a cada localización, donde se mantiene la misma probabilidad de encontrar al animal. En este estudio, este área de margen tuvo un radio de unos 4 metros de media en torno a los puntos más periféricos, haciendo que el área de campeo estimada sea, como muestran los datos de Peñalara, mayor que mediante polígonos, que no conceden ningún margen de probabilidad de encuentro del animal más allá del punto donde éste ha sido realmente localizado. En Sierra Nevada, sin embargo, las localizaciones de los individuos están más dispersas, varias de ellas formando núcleos alejados del resto en número suficientemente alto como para tener peso en las estimas del área de campeo (es decir, no se trata de localizaciones aisladas –outliers–, sino de grupos de localizaciones aislados). En este tipo de distribución con agrupaciones de puntos marginales, las estimas mediante MCP (polígonos) son mayores que mediante kernels, pues aunque los kernels tiendan a aumentar algo el contorno al añadir esa área de buffer en torno a cada punto, también son capaces de ajustar el ancho de banda a la densidad de

puntos, estrechando el contorno o incluso extinguiéndolo en zonas de transición donde no hay puntos. De esta manera los kernels pueden definir un área de campeo formada por dos o más áreas disyuntas, mientras que los polígonos definen un área única y continua y de grandes dimensiones en la que incluyen toda esa superficie de transición aunque apenas sea visitada.

En S.Nevada, por tanto, los animales no tienen un área que usan de forma más o menos homogénea, sino que hacen excursiones regulares fuera de su área más próxima. Esto hace que las áreas de campeo en la colonia de S.Nevada ($2359 \pm 1463 \text{ m}^2 \sim 49\text{m} \times 49\text{m}$) tiendan a ser más grandes (un 15% mayores) que en Peñalara, aunque estas diferencias no son significativas, probablemente debido al bajo tamaño muestral. Este uso del espacio característico de los topillos nivales en S.Nevada puede estar relacionado con la búsqueda de recursos, tanto de carácter alimenticio como de pareja. En este sentido, los animales adultos de la colonia de estudio de Sierra Nevada (Hembras: $43 \pm 8\text{g}$; Machos: $44 \pm 6\text{g}$) tienen un peso mucho menor que los de Peñalara (Hembras: $52 \pm 7\text{g}$; Machos: $60 \pm 5\text{g}$) (Mann-Whitney U Test; $p < 0.05$ mostrando diferencias significativas en ambos sexos entre localidades). Es decir, los animales de S.Nevada presentan una condición física peor que los de Peñalara, y muy probablemente esto es debido a un hábitat mucho más pobre. En la colonia de S.Nevada el alimento es muy escaso. Una fuerte carga ganadera (cabras y ovejas) compite por las escasas herbáceas (sobre todo del género *Festuca*) que crecen en un entorno tan árido, y los matorrales de piorno (*Cytisus* ssp. y *Genista* ssp.), de los que también se alimentan los topillos, crecen por lo general sólo en la periferia del canchal (Obs. pers.). La escasez de alimento se sabe que es una de las razones por la que los animales tienden a incrementar el tamaño de sus áreas de campeo (McNab 1963; Madison 1985). Por otro lado, el pequeño tamaño muestral en el número de animales marcados con el que hemos contado para este estudio en S.Nevada es una consecuencia directa de la bajísima densidad poblacional de esta colonia, pese a que el esfuerzo de muestreo (tanto en tiempo, como en trampas y en superficie) ha sido equivalente en las dos localidades. Las dos circunstancias expuestas, búsqueda de alimento y de pareja les obligaría a explorar nuevas zonas, dando lugar al patrón de uso que hemos observado.

Esta diferencia en el patrón de uso del espacio entre los neverones de S.Nevada y de Peñalara también se pone de manifiesto en la dimensión y uso del área de máxima

actividad (c.f. Tabla 4-4). Los animales de S.Nevada tienen unas áreas de máxima actividad el doble de grandes que los de Peñalara, y también pasan en ellas un 25% más del tiempo. Dado que el incremento en superficie y uso no es proporcional, la intensidad de uso de las áreas de máxima actividad de en S.Nevada es más baja. Estos datos sobre las áreas de máxima actividad son consistentes con el patrón de uso que veníamos viendo en los neverones de S.Nevada, ajustado a un medio más pobre, en alimento y pareja (recuérdese la bajísima densidad poblacional de esta colonia), en relación con Peñalara. En un hábitat de éstas características los animales no pueden concentrar la mayor parte de su tiempo y actividad en un entorno reducido, sino que se ven obligados a ampliarlo para satisfacer sus necesidades.

4.4. CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

En la literatura podemos encontrar valores medios del área de campeo del topillo nival que oscilan desde los 300 m² hasta los 4000 m², según el estudio (Le Louran y Janeau 1975; Nieder y Bocchini 1994; Locatelli y Paolucci 1999; Luque-Larena *et al.* 2004). La variabilidad intraespecífica en el tamaño de las áreas de campeo puede deberse, por ejemplo, a diferencias en: la disponibilidad de alimento entre las colonias de estudio (McNab 1963; Madison 1985; Ostfeld 1985), la densidad de la población (Webster y Brooks 1981; Lambin y Krebs 1991), la estación del año (Madison 1984; Wolff 1985), etc... pero la amplitud del rango registrado es tal, que una buena parte de esta variabilidad parece, más bien, atribuible a diferencias metodológicas. Aunque en todos los trabajos citados, la delimitación de las áreas de campeo está basada en el método del MCP (polígono convexo mínimo), las condiciones respecto al número de observaciones (o localizaciones) para cada animal, la distancia entre trampas, etc... son distintas, lo que hace que los estudios no se pueden comparar. De aquí se deriva la importancia de unificar criterios en la toma y el análisis de los datos para hacer comparables este tipo de estudios.

Como hemos visto en el inicio del capítulo, la disponibilidad de métodos de análisis para el tratamiento de datos de telemetría (o de capturas sucesivas) es muy extensa. Además no hay consenso sobre qué método es el más adecuado, con lo que cada autor usa

su propio criterio. En este trabajo hemos seguido una metodología objetiva y rigurosa, justificando paso a paso las decisiones tomadas en cuanto a los criterios usados para la delimitación de las áreas de campeo y los centros de máxima actividad. Asimismo creemos que representa muy fidedignamente la extensión, configuración y uso interno que de éstas áreas hacen los animales. Por ello consideramos que la metodología aquí seguida es adecuada para el análisis de datos de radiotracking, y que su aplicación en trabajos futuros haría posible la comparación entre los mismos.

Como última cuestión hay que tener en cuenta que los datos observados en este estudio y su interpretación corresponden a un periodo limitado sobre un número reducido de animales. Esto afecta particularmente en el estudio de las interacciones entre animales y el solapamiento de sus áreas, pues si no se tienen todos los animales, el puzzle siempre se verá incompleto. Además, hay que recordar que los patrones espaciales son muy variables, y que éstos pueden irse modificando a lo largo de una misma temporada reproductiva. Sería por tanto imprescindible aumentar ambas cuestiones, la duración del periodo de seguimiento y el número de individuos, para comprender de una forma más integrada la ecología espacial del neverón. Sin embargo, una limitación importante en la viabilidad de este planteamiento es la escasa vida de los collares emisores apropiados para animales de pequeño tamaño como los topillos. En esta misma línea, por limitaciones de peso del collar-emisor sólo se han marcado los individuos más grandes, pero sin lugar a dudas sería interesantísimo también marcar crías y seguir las durante la fase dispersiva hasta que se establezcan en un territorio, realizando de forma paralela estudios de parentesco. Sigue habiendo por tanto muchas cuestiones respecto de la ecología espacial y sistema de apareamiento del neverón en los que aún es necesario profundizar.

5. **BIBLIOGRAFÍA**

- Anderson, J. D. (1982). The home range: a new nonparametric estimation technique. *Ecology*, 63 (1):103-112.
- Andrzejewski, R. (2002). The home range concept in rodents revised. *Acta Theriologica*, 47, Suppl. 1:81-101.
- Barg, J. J., Jones, J. y Robertson, R. J. (2005). Describing breeding territories of migratory passerines: suggestions for sampling, choice of estimator, and delineation of core areas. *Journal of Animal Ecology*, 74:139-149.
- Batzli, G. O. y Henttonen, H. (1993). Home range and social organization of the singing vole (*Microtus miurus*). *Journal of Mammalogy*, 74 (4):868-878.
- Berteaux, D., Masseboeuf, F., Bonzom, J. M., Bergeron, J. M., Thomas, D. W. y Lapierre, H. (1996). Effect of carrying a radiocollar on expenditure of energy by meadow voles. *Journal of Mammalogy*, 77 (2):359-363.
- Blair, W. F. (1940). A study of prairie deer-mouse populations in southern Michigan. *American Midland Naturalist*, 24:273-305.
- Blundell, G. M., Maier, J. A. K. y Debevec, E. M. (2001). Linear home ranges: effects of smoothing, sample size, and autocorrelation on kernel estimates. *Ecological Monographs*, 71 (3):469-489.
- Boonstra, R., Gilbert, B. S. y Krebs, C. J. (1993). Mating systems and sexual dimorphism in mass in microtines. *Journal of Mammalogy*, 74(1):224-229.
- Boulanger, J. G. y White, G. C. (1990). A comparison of home-range estimators using Monte Carlo simulation. *Journal of Wildlife Management*, 54:310-315.
- Brotherton, P. N. M. y Komers, P. E. (2003). Mate guarding and the evolution of social monogamy in mammals. Pp. 42-58. En: Reichard, U. H. y Boesch, C. (eds.). *Monogamy: mating strategies and partnerships in birds, humans and other mammals* Cambridge University Press, Cambridge, UK. 278pp.
- Burt, W. H. (1943). Territory and home range concepts as applied to mammals. *Journal of Mammalogy*, 24:346-352.
- Cochran, W. W. y Lord, J. R. D. (1963). A radio-tracking system for wild animals. *Journal of Mammalogy*, 27:9-24.

- Davies, N. B. (1978). Ecological questions about territorial behaviour. Pp. 217-350. En: Krebs, J. R. y Davies, N. B. (eds.). *Behavioural ecology: an evolutionary approach*. Sinauer, Sunderland, Mass. 465 pp.
- de Solla, S. R., Bonduriansky, R. y Brooks, R. J. (1999). Eliminating autocorrelation reduces biological relevance of home range estimates. *Journal of Animal Ecology*, 68:695-704.
- Desy, E. A., Batzli, G. O. y Jike, L. (1989). Comparison of vole movements assessed by live trapping and radiotracking. *Journal of Mammalogy*, 70 (3):652-656.
- Dice, L. R. y Clarck, P. J. (1953). *The statistical concept of home range as applied to the recapture of deermouse (Peromyscus)*. Biol. Contrib. 62, 15pp., Univ. Mich. Lab. Vertebr. pp.
- Dixon, K. R. y Chapman, J. A. (1980). Harmonic mean measure of animal activity areas. *Ecology*, 61:1040-1044.
- Don, B. A. C. y Rennolls, K. (1983). A home range model incorporating biological attraction points. *Journal of Animal Ecology*, 52:69-81.
- Dunn, J. E. (1979). A complete test dynamic interaction. En: Long, F. E. (eds.). En: *Proceedings of the 2nd international conference of wildlife biotelemetry*, Laramie
- Emlen, S. T. y Oring, L. W. (1977). Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*, 197 (4300):215-223.
- Endries, M. J. y Adler, G. H. (2005). Spacing patterns of a tropical forest rodent, the spiny rat (*Proechimys semispinosus*), in Panama *Journal of Zoology*, 265:147-155.
- Fernández-Salvador, R., García-Perea, R. y Ventura, J. (2001). Reproduction and postnatal growth of the Cabrera vole, *Microtus cabrerae*, in captivity. *Canadian Journal of Zoology*, 79 (11):2080-2085.
- FitzGerald, R. W. y Madison, D. M. (1983). Social organization of a free-ranging population of pine voles, *Microtus pinetorum*. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 13:183-187.
- Fletcher, Q. E. y Boonstra, R. (2006). Impact of live trapping on the stress response of the meadow vole (*Microtus pennsylvanicus*). *Journal of Zoology*, 270:473-478.
- Fowler, J., Cohen, L. y Jarvis, P. (1998). *Practical statistics for field biology*. Open University Press, Chichester, Uk. 256 pp.
- Gaulin, S. J. C. y FitzGerald, R. W. (1988). Home-range size as a predictor of mating systems in *Microtus*. *Journal of Mammalogy*, 69 (2):311-319.

- Getz, L. L., Hofmann, J. E. y Carter, C. S. (1987). Mating system and population fluctuations of the prairie vole, *Microtus ochrogaster*. *American Zoologist*, 27:909-920.
- Gliwicz, J. (1997). Space use in the root vole: basic patterns and variability. *Ecography*, 20:383-389.
- Harris, S., Cresswell, W. J., Forde, P. G., Trewhella, W. J., Woollard, T. y Wray, S. (1990). Home-range analysis using radio-tracking data-- A review of problems and techniques particularly as applied to the study of mammals. *Mammal Review*, 20 (2/3):97-123.
- Hayne, D. W. (1949). Calculation of size of home range. *Journal of Mammalogy*, 30:1-18.
- Heske, E. J. y Ostfeld, R. S. (1990). Sexual dimorphism in size, relative size of testes, and mating systems in North American voles. *Journal of Mammalogy*, 71 (4):510-519.
- Hooge, P. N. y Eichenlaub, B. (1997). Animal movement extension to ArcView. Ver. 2.04 beta. Alaska Biological Science Center, U.S. Geological Survey, Anchorage, Ak, USA.
- Horne, J. S. y Garton, E. O. (2006a). Likelihood Cross-Validation Versus Least Squares Cross-Validation for Choosing the Smoothing Parameter in Kernel Home-Range Analysis. *Journal of Wildlife Management*, 70 (3):641-648.
- Horne, J. S. y Garton, E. O. (2006b). Selecting the best home range model: an information-theoretic approach. *Ecology*, 87 (5):1146-1152.
- Ims, R. A. (1987). Male spacing systems in microtine rodents. *The American Naturalist*, 130 (4):475-484.
- Ishibashi, Y., Yoshinaga, Y., Saitoh, T., Abe, S., Iida, H. y Yoshida, M. (1999). Polymorphic microsatellite DNA markers in the field vole *Microtus montebelli*. *Molecular Ecology*, 8 (1):163-164.
- Janeau, G. y Aulagnier, S. (1997). Snow vole- *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Journal of Mountain Ecology*, 4:1-11.
- Jennrich, R. I. y Turner, F. B. (1969). Measurement of non-circular home range. *Journal of Theoretical Biology*.
- Jewell, P. A. (1966). The concept of home range in mammals. *Symp. Zoological Society of London*, 18:85-109.
- Jike, L., Batzli, G. O. y Getz, L. L. (1988). Home ranges of prairie voles as determined by radiotracking and by powdertracking. *Journal of Mammalogy*, 69 (1).

- Johannesen, E., Andreassen, H. P. y Steen, H. (1997). Effect of radiocollars on survival of root voles. *Journal of Mammalogy*, 78 (2):638-642.
- Karlsson, A. F. (1988). Social organization of a low density spring population of the bank vole, *Clethrionomys glareolus*. *Oikos*, 52 (1):19-26.
- Kenward, R. E. (2001). *A manual for wildlife radio tagging*. Academic Press, London. 311 pp.
- Kernohan, B. J., Gitzen, R. A. y Millspaugh, J. J. (2001). Analysis of animal space use and movements. Pp. 125-166. En: Millspaugh, J. J. y Marzluff, J. M. (eds.). *Radio tracking and animal populations*. Academic Press, New York, New York, USA. 474pp.
- Krapp, F. (1982). *Microtus nivalis* (Martins, 1842)- Schneemaus. Pp. 261-283. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II.*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Lair, H. (1987). Estimating the location of the focal center in red squirrel home ranges. *Ecology*, 68:1092-1101.
- Lambin, X. y Krebs, C. J. (1991). Spatial organization and mating system of *Microtus townsendii*. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 28:353-363.
- Le Louran, H. y Janeau, G. (1975). Répartition et biologie du campagnol des neiges *Microtus nivalis* Martins dans la région de Briançon. *Mammalia*, 39 (4):589-604.
- Lemen, C. A. y Freeman, P. W. (1985). Tracking of mammals with fluorescent pigments: a new technique. *Journal of Mammalogy*, 66:134-136.
- Locatelli, R. y Paolucci, P. (1999). Bio-ecologia di arvicola delle nevi *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) nelle Alpi orientali. *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, 48 (supplemento):221-224.
- Luque-Larena, J. J., Lopez, P. y Gosálbez, J. (2001). Scent matching modulates space use and agonistic behaviour between male snow voles, *Chionomys nivalis*. *Animal Behaviour*, 62:1089-1095.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2002). Responses of Snow Voles, *Chionomys nivalis*, Towards Conspecific Cues Reflect Social Organization during Overwintering Periods. *Ethology*, 108 (11):947-959.
- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2004). Spacing behaviour and morphology predict promiscuous mating strategies in the rock-dwelling snow vole, *Chionomys nivalis*. *Canadian Journal of Zoology*, 82 (7):1051-1064.

- MacDonald, D. W., Ball, F. G. y Hough, N. G. (1980). The evaluation of the home range size and configuration using radio-tracking data. Pp. 405-424. En: Amlaner, C. J. y MacDonald, D. W. (eds.). *A handbook on biotelemetry and radiotracking*. Oxford: Pergamon Press.
- Madison, D. M. (1980). Space use and social structure in meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 7:65-71.
- Madison, D. M. (1984). Group nesting and its ecological and evolutionary significance in overwintering microtine rodents. Pp. 267-274. En: Merritt, J. F. (eds.). *Winter ecology of small mammals*. Carnegie Museum of Natural History, Special publication, 10: 380pp.
- Madison, D. M. (1985). Activity rhythms and spacing. Pp. 373-419. En: Tamarin, R. H. (eds.). *Biology of new world Microtus*. Special publication n°8. The American Society of mammalogist. 893 pp.
- Madison, D. M. y McShea, W. J. (1987). Seasonal changes in reproductive tolerance, spacing, and social organization in meadow voles: a microtine model. *American Zoologist*, 27:899-908.
- Mares, M. A. y Lacher, T. E. (1987). Behavioural convergence in rock-dwelling mammals. Pp. En: Genoways, H. H. (eds.). *Current mammalogy*. Plenum Press, New York. 519 pp.
- McNab, B. K. (1963). Bioenergetics and the determination of home range size. *American Naturalist*, 47:133-140.
- Mohr, C. O. (1947). Table of equivalent populations of North American small mammals. *American Midland Naturalist*, 37:223-449.
- Nams, V. O. (2005). Locate III. User's guide. Pacer Computer Software. Tatamagouche, Nova.
- Nieder, L. y Bocchini, M. (1994). The home range of *Microtus (Chionomys) nivalis* (Rodentia: Muridae). *Boll. Zool. Suppl.*, 56.
- Ostfeld, R. S. (1985). Limiting resources and territoriality in microtine rodents. *The American Naturalist*, 126 (1):1-15.
- Ostfeld, R. S. (1990). The ecology of territoriality in small mammals. *Trends in Ecology and Evolution*, 5 (12):411-415.
- Ostfeld, R. S. y Klosterman, L. L. (1990). Microtine social systems, adaptation and the comparative method. Pp. 35-44. En: Tamarin, R. H., Ostfeld, R. S., Pugh, S. R. y

- Bujalska, G. (eds.). *Social systems and population cycles in voles*. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 229 pp.
- Ribble, D. O. y Stanley, S. (1998). Home ranges and social organization of syntopic *Peromyscus boylii* and *P. truei*. *Journal of Mammalogy*, 79 (3):932-941.
- Ribble, D. O., Wurtz, A. E., McConnell, E. K., Buegge, J. J. y Welch, K. C. (2002). A comparison of home ranges of two species of *Peromyscus* using trapping and radiotelemetry data. *Journal of Mammalogy*, 83 (1):260-266.
- Rodgers, A. R. y Carr, A. P. (1998). HRE: The Home Range Extension for ArcView. Ontario Ministry of Natural Resources. Centre for Northern Forest Ecosystem Research. Thunder Bay, Ontario, Canada.
- Samuel, M. D., Pierce, D. J. y Garton, E. O. (1985). Identifying areas of concentrated use within the home range. *The Journal of Animal Ecology*, 54 (3):711-719.
- Schoener, T. W. (1981). An empirically based estimate of home range. *Theoretical Population Biology*, 20 (281-325).
- Seaman, D. E., Millsaugh, J. J., Kernohan, B. J., Brundige, G. C., Raedeke, K. J. y Gitzen, R. A. (1999). Effects of sample size on kernel home range estimates. *Journal of Wildlife Management*, 63:739-747.
- Seaman, D. E. y Powell, R. A. (1996). An evaluation of the accuracy of kernel density estimators for homerange analysis. *Ecology*, 77 (7):2075-2085.
- Siegel, S. y Castellan, N. J. (1988). *Nonparametric statistics for the behavioural sciences*. McGraw-Hill. New York. 399 pp.
- Silverman, B. W. (1986). *Density estimation for statistics and data analysis*. Chapman and Hall, London, England. 175 pp.
- Soriguer, R. (1986). Estructura social de los topillos mediterráneos (*Pytimys duodecimcostatus*) en las colonias de las Sierras de Cazorla-Segura. Pp. 247-256. En: Arias, L., Recuerda, P. y Redondo, T. (eds.). *Actas I Congreso Nacional de Etología*. Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba, Córdoba.
- StatSoft, I. (2001). Statistica (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- Swihart, R. K. y Slade, N. A. (1985). Testing for independence of observations in animal movements. *Ecology*, 66:1176-1184.
- Tamarin, R. H., Ostfeld, R. S., Pugh, S. R. y Bujalska, G. (1990). *Social systems and population cycles in voles*. Advances in life sciences, Basel, Switzerland. 229 pp.

- Tellería, J. L. (1986). *Manual para el censo de los vertebrados terrestres*. Santander. 278 pp.
- Van Winkle, W. (1975). Comparison of several probabilistic home-range models. *Journal of Wildlife Management*, 39:118-123.
- Viitala, J. y Pusenius, J. (1990). A comparative study of phenotypic changes in *Microtus* social organization. Pp. 131-142. En: Tamarin, R. H., Ostfeld, R. S., Pugh, S. R. y Bujalska, G. (eds.). *Social systems and population cycles in voles*. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 229 pp.
- Viitala, J., Pusenius, J., Ylönen, H., Mappes, T. y Hakkarainen, H. (1996). Social organization and life history strategy in microtines. *Proceedings of the I European Congress of Mammology*, Museu Bocage, Lisboa, 1996:151-161.
- Webster, D. G. y Brooks, R. J. (1981). Social behaviour of *Microtus pennsylvanicus* in relation to seasonal changes in demography. *Journal of Mammalogy*, 62:738-751.
- White, G. C. y Garrott, R. A. (1990). *Analysis of wildlife radio-tracking data*. Academic Press, San Diego, California. 383 pp.
- Wolff, J. O. (1985). Behaviour. Pp. 340-372. En: Tamarin, R. H. (eds.). *Biology of new world Microtus*. Special publication nº8. The American Society of mammalogist. 893 pp.
- Wolff, J. O. y Lidicker, W. Z. (1980). Population ecology of the taiga vole (*Microtus xanthognathus*) in interior Alaska. *Canadian Journal of Zoology*, 58:1800-1812.
- Worton, B. J. (1987). A review of models of home range for animal movement. *Ecological modelling*, 38:277-298.
- Worton, B. J. (1989). Kernel methods for estimating the utilization distribution in home-range studies. *Ecology*, 70 (1):164-168.
- Worton, B. J. (1995). Using Monte Carlo simulation to evaluate kernel-based home range estimators. *Journal of Wildlife Management*, 59 (4):794-800.
- Wray, S., Cresswell, W. J., White, P. C. L. y Harris, S. (1992). What, if anything, is a core area? An analysis of the problems of describing internal range configurations. Pp. 256-271. En: Priede, I. G. y Swift, S. M. (eds.). *Wildlife telemetry. Remote monitoring and tracking of animals*. Chichester, UK. 708 pp.

APROXIMACIÓN A LOS RANGOS DE REFERENCIA
DEL PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO
DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

APROXIMACIÓN A LOS RANGOS DE REFERENCIA DEL PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*)

1. INTRODUCCIÓN.....	260
2. METODOLOGÍA.....	263
2.1. Técnicas de extracción de sangre	263
2.2. Trabajo de campo	265
2.2.1. Técnica de sangrado del seno ocular	266
2.2.2. Procesamiento de la sangre.....	268
2.3. Determinaciones bioquímicas	270
2.4. Los rangos de referencia: algunas consideraciones teorico-prácticas	280
2.5. Análisis de los datos: procedimiento	282
3. RESULTADOS	285
3.1. Origen de las muestras.....	285
3.2. Calidad de las muestras y fiabilidad de las determinaciones bioquímicas	286
3.3. Diferencias entre sexos.....	287
3.4. Diferencias entre estados reproductores	288
3.5. Diferencias entre localidades.....	289
3.6. Rangos de referencia para <i>C.nivalis</i>	291
3.7. Variación con el peso	293
4. DISCUSIÓN.....	294
5. BIBLIOGRAFÍA.....	299

1. INTRODUCCIÓN

La sangre baña todas las células del organismo, transportando nutrientes, oxígeno y productos de desecho, con lo que queda expuesta a casi todos los procesos metabólicos de las células. También es esencial para mantener el correcto equilibrio de electrolitos y agua, para el control de la temperatura, para el funcionamiento del sistema inmunológico y para hacer llegar a los tejidos las moléculas que sirven de señales mediadoras entre un órgano y otro. La alteración de cualquiera de estas funciones y actividades vitales quedaría reflejada en los parámetros sanguíneos, de ahí la importancia de estudiar la sangre (Voigt 2000).

La sangre se compone de dos fases, una fase sólida, constituida por los elementos formes (glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas), y una fase líquida, en la que están inmersos los elementos sólidos junto con metabolitos, proteínas, iones, enzimas, hormonas, etc... De este modo, el estudio de la sangre se divide en dos ramas fundamentales, la *hematología* y la *bioquímica sanguíneas*, que a grandes rasgos, cubren el estudio de la fase sólida y la fase líquida de la sangre, respectivamente. En este trabajo nos vamos a centrar sobre todo en el estudio del perfil bioquímico del topillo nival, es decir, en las concentraciones de determinadas sustancias químicas presentes en la sangre en el momento de su extracción.

Los análisis de bioquímica sanguínea, usados comúnmente en la detección de patologías en animales domésticos, tienen también un gran potencial como herramienta diagnóstica en poblaciones silvestres de animales; sin embargo, esta utilidad se pierde si se desconocen los valores de referencia con los que compararlos (e.g. (Soriguer *et al.* 1994; Christopher *et al.* 1999; Trumble y Castellini 2002; González Rodríguez 2003; Pérez *et al.* 2003; Whiting *et al.* 2007)). Es decir, que para poder evaluar la concentración de los distintos parámetros sanguíneos se requiere conocer, en primer lugar, los valores de referencia que caracterizan la población estudiada. Los valores de referencia de los parámetros sanguíneos constituyen el rango en el que se encuentran la mayoría (i.e. 95%) de los animales sanos de una población.

El establecimiento de los rangos de referencia puede ser extremadamente útil en estudios ecológicos, sobre todo para evaluar el estado de salud de los individuos y las poblaciones (Paul-Murphy *et al.* 1994; Soriguer *et al.* 1994; Christopher *et al.* 1999; Nordoy y Thoresen 2002; Trumble y Castellini 2002; González Rodríguez 2003; Marco *et al.* 2003; Hidalgo-Vila 2006), ya que desviaciones de estos rangos, son a menudo, indicativos de enfermedad. La determinación de los intervalos de referencia de los parámetros sanguíneos de una población también ha mostrado su utilidad en la evaluación del estado nutricional (Whiting *et al.* 2007), o emocional de los animales (e.g. estrés debido al tipo de trampeo o manejo) (Nimitsuntiwong *et al.* 2000; Marco *et al.* 2003; Fletcher y Boonstra 2006), la calidad de hábitat (Nordoy y Thoresen 2002; Pérez *et al.* 2003; Whiting *et al.* 2007), o los cambios en el ambiente (e.g. exposición a diversos contaminantes, productos tóxicos o patógenos) con efectos sobre la salud animal (Paul-Murphy *et al.* 1994; Nordoy y Thoresen 2002; Hidalgo-Vila 2006; Metcheva *et al.* 2008).

No obstante, hay que tener en cuenta que para que los valores de referencia plasmáticos se puedan usar como herramienta diagnóstica, el grupo poblacional al que se refieren tiene que estar perfectamente definido. Son muchos los factores que pueden generar diferencias fisiológicas interindividuales en los parámetros sanguíneos, como por ejemplo, el sexo, la edad, los ritmos circadianos y estacionales, el hábitat, la condición reproductora, los factores climáticos, la localización geográfica (altitud), la técnica de captura y manejo de los animales, el método de obtención de las muestras sanguíneas, etc, etc... (Soriguer *et al.* 1994; Trumble y Castellini 2002; González Rodríguez 2003; Marco *et al.* 2003; Whiting *et al.* 2007). Todas estas posibles fuentes de variación deben ser evaluadas, y en el caso de que efectivamente ocasionen diferencias en los valores de los parámetros bioquímicos, entonces habrá que establecer unos rangos de referencia específicos para cada subgrupo poblacional, que estará constituido por individuos afectados por las mismas características.

Los intervalos (o rangos) de referencia de los parámetros bioquímicos, así como los índices hematológicos, se conocen con detalle en los roedores de laboratorio, es decir, aquellos empleados comúnmente para la experimentación clínica: ratas y ratones, sobre

todo, pero también hámsters, cobayas y conejillos de Indias (e.g. (Donald Caisey y King 1980; Loeb 1989; Olfert *et al.* 1998; Campbell 2004a)). Sin embargo, los parámetros sanguíneos, tanto hematológicos como bioquímicos, apenas han sido estudiados en microtinos silvestres. En este sentido podemos citar únicamente un puñado de estudios hematológicos sobre los valores del hematocrito, la proporción de las distintas fracciones proteicas del suero (albúmina y las distintas globulinas) (Dobrowolska 1975; Dobrowolska 1982b), y el cambio estacional del índice leucocitario en una población silvestre de *Microtus arvalis* (Rewkiewicz-Dziarska 1975). Bajo condiciones experimentales de laboratorio sí que se han realizado más estudios hematológicos en microtinos, fundamentalmente centrados en *M.arvalis* y *Microtus (Pitymys) subterraneus*, de cuantificación de hemoglobina, leucocitos, glóbulos rojos y valor del hematocrito en relación al fotoperiodo, estadio de actividad sexual o edad de los individuos (Kosteleva-Myrcha 1966a; Kosteleva-Myrcha 1966b; Kosteleva-Myrcha y Myrcha 1966b; Kosteleva-Myrcha y Myrcha 1966a; Dobrowolska 1982a; Dobrowolska y Gromadzka-Ostrowska 1983). Si bien sí ha sido posible citar una larga serie de trabajos que abordan distintos índices hematológicos en *Microtus*, se puede decir que los trabajos con una base descriptiva sobre la bioquímica sanguínea de los microtus en estado silvestre en particular, y de los roedores silvestres en general, son prácticamente inexistentes en la bibliografía.

No es menos lo que podemos decir sobre la especie de interés, el topillo nival, para la que apenas se han realizado estudios sanguíneos. En concreto, se desconoce absolutamente todo acerca de la bioquímica sanguínea de este animal, y por supuesto los rangos de referencia de los parámetros bioquímicos nunca han sido establecidos. La hematología del topillo nival tampoco ha sido estudiada en mucho detalle, aunque al menos algunos índices hematológicos (concentración de hemoglobina y recuento de glóbulos rojos y blancos, y monocitos) del mismo han sido recogidos en un trabajo reciente (Metcheva *et al.* 2008). Asimismo podemos citar únicamente dos trabajos en los que el valor del hematocrito ha sido estudiado para el topillo nival para relacionarlo con aspectos muy diversos: selección sexual (Luque-Larena *et al.* 2003) y efectos de la contaminación por metales pesados (Topashka-Ancheva *et al.* 2003).

Nuestro objetivo consiste en establecer los valores de referencia de algunos parámetros bioquímicos representativos entre los que se incluyen metabolitos, iones, enzimas y proteínas plasmáticas, y los valores de hematocrito para poblaciones de topillo nival en estado silvestre. Dentro de este objetivo, nuestro propósito es que los rangos de referencia que establezcamos sean lo más representativos posible, por lo que deberían recoger la máxima variabilidad interindividual; sin embargo, y para ello, primero tenemos que evaluar si todas nuestras muestras sanguíneas pueden ser tratadas de una forma homogénea. Para ello examinaremos primero las distintas fuentes de variación potencial, y en base a los resultados obtenidos, bien mantendremos los individuos juntos en una única población homogénea o tendremos que ir creando subgrupos poblacionales (por sexo, localidad, estado reproductor...) si éstos presentan diferencias significativas en los valores bioquímicos plasmáticos. La aproximación al establecimiento de los rangos de referencia que aportamos en este estudio constituye una contribución inédita al conocimiento de la bioquímica sanguínea de las poblaciones silvestres de topillo nival.

2. METODOLOGÍA

2.1. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN DE SANGRE

La obtención de muestras sanguíneas de calidad y en suficiente cantidad es difícil de conseguir en animales pequeños, sobre todo si se desea que sigan con vida. Por lo general, los roedores carecen de vasos sanguíneos superficiales de tamaño suficiente como para utilizar una aguja, y los que tienen más profundos a menudo están cubiertos por una gruesa capa de grasa, lo que hace difícil su localización y acceso desde el exterior. En la práctica clínica, el sitio más común para la extracción de sangre en pequeños roedores es la vena de la cola, sin embargo, en especies con cola muy corta o carente de ella, como los topillos y los hámsters esta práctica no es viable (Campbell 2004b). En estas especies, los sitios reconocidos para la toma de sangre en animales vivos son el corazón, mediante la denominada *punción cardiaca*, y el seno ocular (Olfert *et al.* 1998; Morton *et al.* 2003; Campbell 2004b; Felasa Federation of European Laboratory Animal Science Associations, 2006).

Dada la dificultad, y sobre todo el riesgo inherente para los animales durante la ejecución de éstas prácticas, la adquisición de experiencia era necesaria previa a su aplicación sobre la especie de interés, el topillo nival. Con ese fin realicé ensayos de punción cardiaca y ocular en ratones (*Apodemus sylvaticus* y *A.flavicolis*). Estos ejemplares se capturaron dentro de un proyecto sobre la búsqueda de infecciones por hantavirus en roedores, y en última instancia el estudio requería que fueran sacrificados.

Durante este periodo de entrenamiento, llegamos a la conclusión de que para que la **extracción de sangre mediante punción cardiaca** se realice con éxito y el animal se recupere, tienen que cumplirse las siguientes condiciones:

- inmovilización total del animal, con lo que la anestesia (éter) tiene que dormir al animal profundamente mientras se está pinchando el corazón, de lo contrario hay riesgo de que el más mínimo movimiento del animal haga que el bisel de la aguja le rasgue el corazón, provocando daños irreversibles. Por su parte, la aplicación de la anestesia hasta el nivel quirúrgico también tiene su riesgo, pues los animales pueden reaccionar de distinta manera a la misma dosis de éter, pudiendo ocasionar fallo respiratorio y cardiaco en caso de sobredosis (Felasa Federation of European Laboratory Animal Science Associations, 2006 2006, 2006, 2006).
- “acertar” en el corazón, idealmente en el ventrículo izquierdo para que la jeringa se llene más rápido. Obviamente, esta tarea no es fácil dado el pequeño tamaño de los animales, y más aún del corazón. Se trata, por tanto, de una práctica de una única oportunidad, con dos caras: acierto o error. El error, a menudo conduce a hemotórax (encharcamiento de la cavidad pleural con sangre, por perforación accidental de la misma con la aguja), o parada respiratoria.
- recuperación del animal, tanto de la anestesia, como de la punción (doble reto).

La conclusión a la que la experiencia adquirida nos llevó es que el riesgo mortal para el animal, como consecuencia de la punción cardiaca, es muy elevado, hecho con el que también coinciden otros trabajos (Jain 1986; Morton *et al.* 2003).

La **obtención de sangre del seno ocular** resultó mucho más efectiva, rápida y exitosa, y aunque evidentemente el tejido ocular sufre un daño, el riesgo para el animal es mucho menor. Este daño del tejido ocular se suele curar solo, sin dejar señales, aunque a veces queda una cicatriz interna, y en algunos casos puede conllevar la pérdida del ojo (van Herck *et al.* 1998). No obstante, la experiencia en la aplicación de esta técnica hace que los daños se minimicen (van Herck *et al.* 1998), y de ahí el periodo de práctica y ensayo que realicé en otras especies hasta dominarla con seguridad. Por otro lado, se ha comprobado que esta técnica no provoca diferencias en el comportamiento locomotor, de acicalamiento (grooming) o de inactividad de ratas, en comparación con estos comportamientos tras la extracción de sangre de la vena caudal o femoral (van Herck *et al.* 2001). Asimismo, tampoco supone un afecto añadido sobre el ritmo de pulsación cardíaca, la temperatura corporal o el comportamiento de alimentación en comparación con animales control únicamente tratados con anestesia (van Herck *et al.* 1997). La no alteración de estos parámetros vitales y comportamientos de los animales tras la extracción de sangre del plexo ocular es fundamental en un estudio como el presente, en el que todo el procedimiento para la toma de la muestra se efectúa en el campo, y los animales son liberados a continuación, sin posibilidad de hacer un seguimiento monitoreado o controlar su condición en un laboratorio.

Todas estas razones hacen que el sangrado retroorbitario sea la técnica recomendada para extraer cantidades de sangre relativamente elevadas en roedores vivos (Jain 1986; Mills *et al.* 1995; Morton *et al.* 2003; Felasa Federation of European Laboratory Animal Science Associations, 2006), y por ello éste fue el método que finalmente seguimos para obtener muestras de sangre de los topillos nivales.

2.2. TRABAJO DE CAMPO

La obtención de las muestras de sangre se llevó a cabo directamente en el campo, para minimizar el trastorno de los animales debido al transporte y por cuestiones logísticas. Se capturaron animales con trampas de tipo Sherman en varias localidades (Pirineos, Peñalara, Sierra Nevada y Sierra Cebollera) con el fin de poder comparar entre áreas de

estudio. En Pirineos, S.Nevada y S.Cebollera, los muestreos se realizaron en verano de 2006, mientras que en Peñalara fue en otoño del mismo año. La extracción de sangre se efectuó en todos los casos a través del seno ocular, por ser la práctica más adecuada según se ha comentado en la sección anterior, y que a continuación explicamos con detalle.

2.2.1. Técnica de sangrado del seno ocular

La técnica de sangrado del seno venoso orbital, también se conoce como sangrado retro-orbital, peri-orbital o de la órbita posterior, e implica pinchar el seno venoso detrás del globo ocular con un tubo capilar para obtener la muestra de sangre.

El procedimiento de extracción de sangre del seno ocular que hemos seguido está basado en las pautas de Mills *et al.* 1995 y Morton *et al.* 2003, y consta de los siguientes pasos:

- 1) Anestesiarse al animal. En general no se requiere anestesia general en este procedimiento pues los animales se pueden inmovilizar bien si se sujetan correctamente según se explica en el siguiente punto. No obstante, y con el fin de minimizar el estrés y daño a los animales, utilizamos éter con fines analgésicos. En un mismo bote de cristal introducíamos algodón impregnado en éter y al animal, que era extraído del bote cuando mostraba signos de adormecimiento.
- 2) Sujetar al animal de la manera y posición adecuada. Para ello, mirando la superficie dorsal del topillo, se coloca el dedo pulgar de la mano izquierda sobre la parte superior de la cabeza y el dedo índice bajo la garganta y se deslizan hacia atrás para que la piel quede tirante, de modo que sobresalga el ojo derecho y quede al descubierto el globo ocular (Figura 5-1a). Hay que tener cuidado de no impedir la respiración por causar colapso de la tráquea.
- 3) Introducir la porción terminal del tubo capilar heparinizado por la parte exterior o interior del ojo (Figura 5-1b). Nosotros siempre accedimos al seno ocular por la

parte interna. Cuando el tubo capilar alcanza la parte posterior de la órbita y se palpa el hueso, rotar sobre su eje un poco el capilar contra el hueso para romper las vénulas y para que empiece a fluir la sangre. Retirar el tubo suavemente alejándolo del hueso, para permitir que la sangre entre al tubo sin obstrucción. El tubo deberá estar perpendicular a la cara del animal y deberá inclinarse hacia abajo en dirección a un eppendorf (u otro recipiente adecuado), donde la sangre irá goteando (Figura 5-1c).

- 4) Sacar el tubo capilar del ojo y soltar la presión sobre la piel y, con un pequeño pedazo de gasa estéril o papel absorbente apretar unos segundos cerrando el ojo afectado para detener el sangrado y secar el exceso de sangre del área (Figura 5-1d).



Figura 5-1.- Sangrado retroorbitario: a) sujeción correcta del animal, b) inserción del tubo capilar en el extremo exterior (o interior) del ojo, c) flujo de sangre a través del tubo capilar, d) suave presión sobre el ojo para detener sangrado (Modificado a partir de Mills *et al.* 1995)

Todos los animales liberados tras la extracción de sangre se comportaron con normalidad, (i.e. sin signos aparentes de daño ocular, ceguera o desorientación). Muchos de ellos volvieron a caer en las trampas más tarde el mismo día o en días sucesivos, permitiéndonos comprobar que en ninguna ocasión se produjo hematoma y que el ojo estaba externamente en buen estado.

En general, la cantidad máxima de sangre que puede ser extraída sin riesgo en ratas, ratones, hámsters, y demás roedores de laboratorio equivale al 10% del volumen total de sangre o al 1% del peso del animal (Campbell 2004b; Campbell 2004a). Atendiendo al peso de los animales, esa relación nos permitió extraer entre 250-450 microL de sangre en los animales de estudio.

2.2.2. Procesamiento de la sangre

Para evitar la formación de coágulos y facilitar el flujo de la sangre a través del capilar, para su extracción utilizamos tubos de microhematocrito de vidrio neutro con heparina de sodio (Clinicord, S.L.). La heparina es un anticoagulante cuyo uso es común en la extracción de sangre de pequeños roedores, porque reduce la hemólisis y porque se puede obtener un mayor volumen de plasma que de suero (Campbell 2004a).

La sangre se recogió en tubos eppendorfs, que se dejaron en un sitio fresco y a la sombra hasta que se tuvo acceso a una centrifuga (entre 2-3 horas). Posteriormente la sangre se centrifugó a 1500 rpm durante 10 minutos en una centrifuga portátil (Nahita 2610) y se transfirió el plasma a un nuevo eppendorf (de 0.5 ml) con jeringas desechables (Figura 5-2). Los eppendorfs con el plasma así preparado se conservaron en nitrógeno líquido durante 1-2 semanas, y posteriormente en un criocongelador a -80°C hasta que se realizaron los análisis bioquímicos.

Los análisis bioquímicos se realizaron en un autoanalizador Vet Scan de Abaxis (año 2006, modelo I) que permite la determinación de hasta 14 parámetros sanguíneos (que describimos en la siguiente sección) mediante técnicas colorimétricas.



Figura 5-2.- Centrífuga portátil para trabajar en el campo. Toma la corriente eléctrica del coche, a través de un transformador. La foto superior muestra un eppendorf de 0.5 ml recién centrifugado para conseguir la separación del plasma y las células sanguíneas. Sobre un soporte improvisado de plastilina verde se puede observar la colección de pares de tubos eppendorfs con el plasma y las células sanguíneas ya separados en sendos tubos, de color blanquecino y rojo, respectivamente.

También determinamos el valor hematocrito mediante el método del microhematocrito. Este método consiste en centrifugar la sangre recién extraída y sin coagular en tubos capilares a una fuerza centrífuga suficiente para separar las células del plasma y compactar las células de forma que no quede plasma atrapado entre ellas. La fuerza centrífuga separa los componentes sanguíneos según su peso. Los elementos más

pesados son los hematíes que se sitúan en el fondo del tubo. Encima de estos se depositan los leucocitos y las plaquetas formando una capa blanquecina denominada costra flogística. Y por encima de ésta se localiza el plasma. Posteriormente, el valor hematocrito se calcula midiendo el volumen que ocupan los eritrocitos en relación con el volumen total de la sangre introducido en el tubo capilar, para lo que existen gráficas que realizan directamente el cálculo (Figura 5-3). Antes de iniciar la centrifugación (10 minutos a 1500 rpm) se debe sellar el extremo inferior del tubo capilar con plastilina (UCM 2000).

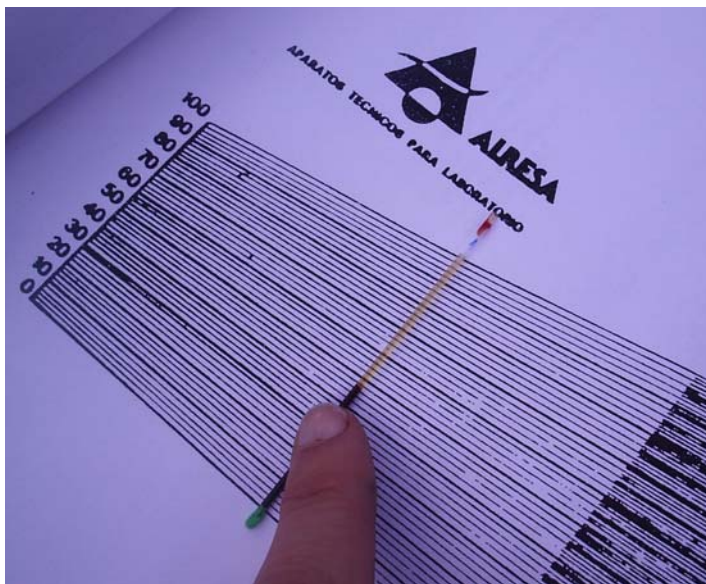


Figura 5-3.- Gráfica de lectura del valor hematocrito. El capilar se debe colocar en perpendicular a la base del gráfico, y la lectura del hematocrito corresponde con la línea que corta el máximo alcance del volumen de los hematíes (contenido rojo del capilar).

2.3. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

Las determinaciones bioquímicas que comprende este estudio incluyen:

- metabolitos: bilirrubina total (mg/dl), glucosa (mg/dl), creatinina (mg/dl), urea (mg/dl)
- iones: calcio (mg/dl), fósforo (mg/dl), sodio (mmol/l), potasio (mmol/l)
- enzimas: fosfatasa alcalina (u/l), alanín-transaminasa (u/l), amilasa (u/l)
- proteínas: albúmina (g/dl), proteínas totales (g/dl) y globulinas (g/dl)

A continuación describimos brevemente el papel fisiológico de estos parámetros en los mamíferos en general, así como la importancia diagnóstica que la alteración de los mismos puede tener. La información que a continuación exponemos está obtenida de las siguientes fuentes: (Guyton 2001; González Rodríguez 2003; Campbell 2004a; Zapata Builes y Falardo Rincón 2007).

Bilirrubina total (TBIL) (mg/dl)

La bilirrubina es el producto de la degradación de la hemoglobina y de otras hemoproteínas. La hemoglobina es una heteroproteína de la sangre que se encuentra y se produce en el citoplasma de los glóbulos rojos (eritrocitos o hematíes). Está formada por cuatro cadenas polipeptídicas (globinas) a cada una de las cuales se une un grupo hemo (parte prostética), cuyo átomo de hierro es capaz de unirse de forma reversible al oxígeno. De ahí que la función de la hemoglobina sea almacenar y transportar oxígeno molecular de los pulmones hacia los tejidos y dióxido de carbono desde los tejidos periféricos hacia los pulmones.

Cuando los eritrocitos envejecen (vida media 100-120 días) son destruidos en los macrófagos del bazo y del hígado. Los componentes peptídicos (las globinas) y el átomo de hierro son conservados y reutilizados, y el grupo hemo es transformado en bilirrubina, que es liberada al torrente sanguíneo.

En el torrente circulatorio, la bilirrubina es transportada por la albúmina (bilirrubina indirecta, no conjugada o libre) y posteriormente captada por el hígado. En el hígado la bilirrubina se liga a otra partícula (bilirrubina directa o conjugada) que aumenta su solubilidad permitiendo su secreción en la bilis sin que se formen cristales. En el intestino la bilirrubina es reducida por acción de los microorganismos formando nuevos derivados de la bilirrubina que, posteriormente, serán en parte reabsorbidos por la mucosa intestinal y excretados en la orina.

La bilirrubina indirecta aumenta si la destrucción de eritrocitos aumenta o si la conjugación de bilirrubina en el hígado es defectuosa. Es por tanto un parámetro muy

específico de la función endocrina del hígado. La bilirrubina directa aumenta si la excreción de la bilis disminuye, por ejemplo, debido a la obstrucción de las vías biliares.

Glucosa (GLU) (mg/dl)

La glucosa es el indicador más importante del estado energético (y nutricional) de los animales y constituye la fuente de energía (y alimento) principal para los procesos vitales de las células, por lo que su concentración plasmática en animales sanos se mantiene dentro de límites muy estrechos. El sistema nervioso central depende más estrechamente de la glucosa sanguínea que otros órganos y/o funciones, ya que la glucosa es la principal fuente de energía capaz de atravesar la barrera hematoencefálica a una velocidad suficiente para mantener la función normal del tejido. A diferencia, otros tejidos, como el músculo esquelético, son capaces de obtener cantidades importantes de energía química de otros nutrientes (e.g. ácidos grasos), con lo que no son tan dependientes de los niveles glucémicos.

Las fuentes principales de glucosa en sangre son: la ingesta de carbohidratos en la dieta, y la glucogénesis (formación de glucosa a partir de glucógeno, en el hígado y riñones) y en menor medida, por la gluconeogénesis (formación de glucosa a partir de fuentes no carbohidratadas (aminoácidos, ácidos grasos, etc...)).

El equilibrio entre la utilización como aporte energético inmediato o su almacenamiento (como glucógeno en el hígado y el músculo) está regulado fundamentalmente por la acción de dos hormonas, la insulina y el glucagón.

En general se asocia la hipoglucemia a estados de inanición, ayuno, mala nutrición, ejercicio prolongado y enfermedades graves del hígado. La glucosa sanguínea aumenta en los casos de diabetes, y como respuesta a una situación de peligro o estrés, mediada por la liberación de adrenalina, que produce un aumento rápido de la glucemia (glucosa en sangre) al promover la glucogenolisis en las células hepáticas y musculares y de los glucocorticoides, que inhiben la utilización de la glucosa y estimulan la gluconeogénesis.

Creatinina (CRE) (mg/dl)

La creatinina plasmática es un producto de desecho que se origina a partir de la creatina. La creatina se sintetiza en el hígado, desde donde se vierte al plasma y es captada por el músculo donde se combina con una molécula de ATP y se utiliza como almacén de energía en forma de fosfocreatina. Durante el ejercicio, este fosfato de alta energía se segrega en el músculo liberando la energía necesaria y creatinina. La formación de creatinina es constante y cada 24 horas se transforma aproximadamente un 2% de la creatina. En consecuencia la formación de creatinina está en relación con la masa muscular y la actividad física de cada individuo.

La creatinina es extraída del plasma vía renal y es excretada en la orina. A diferencia de la urea, no se ve afectada por el contenido proteico de la dieta, ni por el grado de hidratación o el metabolismo de las proteínas, por lo que es adecuada para medir la fracción de nitrógeno de origen no proteico.

Niveles elevados de creatinina en plasma se presentan cuando se altera la función renal, pero esto también se observa como consecuencia del ejercicio vigoroso. Por el contrario, la disminución de la concentración de creatinina en sangre es indicativa de la pérdida de masa muscular debida a un estado de desnutrición.

Urea (BUN) (mg/dl)

Los animales se caracterizan por su incapacidad para tolerar concentraciones, incluso moderadas, de amoníaco en el ambiente celular, pues resulta tóxico. En los mamíferos, el amoníaco es convertido en urea en el hígado, siendo pues, la urea el principal producto final del catabolismo de las proteínas y aminoácidos. La urea pasa del hígado a la sangre, desde donde en su mayoría acaba siendo excretada por los riñones, y un poco a través de la piel, sobre todo en los animales que sudan.

Los incrementos de urea en sangre pueden ocurrir debido a enfermedades o traumas renales, obstrucción de las vías urinarias, gota, deshidratación o excesiva destrucción de proteínas como ocurre en estados de fiebre. El descenso en los niveles de urea es raro,

aunque teóricamente se puede presentar en asociación con enfermedades hepáticas o malnutrición de proteínas.

Calcio (CA) (mg/dl)

El calcio es el elemento mineral más abundante en el organismo animal, y en un 99% se encuentra en el esqueleto, dientes y cartílagos de los vertebrados. Los niveles séricos de calcio (el 1% del total en el organismo) proceden de tres componentes: casi la mitad del calcio se encuentra ligado a proteínas (generalmente a albúminas), el resto está en forma de iones de calcio y una pequeña parte en complejos de calcio (bicarbonatos, fosfatos...). Sólo las dos últimas formas constituyen la fracción de calcio filtrable o difusible y sólo la forma iónica tiene función fisiológica.

Además de su importante papel estructural (formación ósea) interviene en numerosos procesos celulares como en la transmisión neuronal, la contracción muscular, la coagulación sanguínea, la secreción de diversas hormonas, la producción láctea, etc, etc...

La concentración de calcio en suero depende de muchos factores, como son: la dieta, la absorción gastrointestinal (estimulada por la vitamina D), las hormonas paratiroides, la calcitonina, la vitamina D, la función renal, el equilibrio ácido-básico, etc..... además, los requerimientos de calcio varían con la edad y ciertos estados fisiológicos, como es el caso de la lactancia, la gestación o el crecimiento. Como diagnóstico clínico, niveles elevados de calcio pueden ser indicativos de intoxicación, y niveles bajos, de raquitismo o de un mal funcionamiento renal o tiroideo.

El calcio en sangre se halla íntimamente relacionado con el fósforo en una proporción 2:1, que mantiene el propio organismo a través de la función renal.

Fósforo (FOS) (mg/dl)

El fósforo es probablemente el elemento mineral con más funciones en el organismo: es un elemento esencial para el almacenamiento y transferencia de energía en

la célula y forma parte de los ácidos nucleicos, de las proteínas, de los fosfolípidos de las membranas celulares y de la fracción mineral del hueso. En el organismo se encuentra casi en su totalidad en forma de fosfatos, mayoritariamente (85%) en el hueso y una mínima parte en el plasma unido a proteínas, siendo por tanto infiltrable.

Al igual que el calcio, el fósforo entra en el organismo a través de la dieta y su metabolismo está regulado hormonalmente (hormona paratiroidea) y por la vitamina D.

Sodio (Na) (mmol/l)

El sodio de la dieta se absorbe en el intestino, y en el organismo está presente fundamentalmente como ión sódico. Las funciones principales de este ión se relacionan con la regulación de la presión osmótica, el equilibrio ácido-base, el mantenimiento de los potenciales de membrana y la transmisión de los impulsos nerviosos. La osmolaridad de los líquidos extracelulares depende casi totalmente de la concentración de este catión, por ser el más abundante del líquido extracelular.

La homeostasis de este electrolito se mantiene a nivel renal controlada fundamentalmente por factores osmóticos y la acción de la aldosterona (que retiene sodio y elimina potasio).

Las pérdidas excesivas de sodio están asociadas a problemas en el tracto intestinal (e.g. diarreas) o en los riñones. Por el contrario, el exceso de sodio en plasma (hipernatremia) se produce por deshidratación, ya sea por pérdida excesiva de agua o falta de acceso a la misma, o por dietas con exceso de sal.

Potasio (K) (mmol/l)

En contraste con el sodio, el potasio es el catión intracelular más importante. Interviene en el mantenimiento de la presión osmótica y del equilibrio ácido-base, así como en la transmisión del impulso nervioso y la contracción muscular.

Se elimina a nivel renal y fecal. Niveles bajos de potasio en sangre pueden ser debidos a una dieta deficitaria en potasio o a una pérdida excesiva del mismo asociada a problemas gastrointestinales. Por el contrario, elevados niveles de potasio pueden ser debidos a una excreción renal deficiente o exceso de potasio en la dieta. También pueden detectarse niveles altos de potasio en muestras que han sufrido hemólisis, y en aquellas en las que se ha retrasado demasiado la separación del suero y la fracción celular. Los leucocitos y las plaquetas liberan potasio durante la coagulación y la retracción, por ello el potasio sérico tiende a aumentar con el tiempo. Por el contrario, el potasio plasmático es estable.

Fosfatasa alcalina (ALP) (u/l)

Las fosfatasas pertenecen al grupo de enzimas de las hidrolasas. Esta enzima hidroliza los fosfatos orgánicos produciendo fosfato inorgánico y una fracción orgánica, y liberando energía, en medios básicos (su óptimo de actividad se produce a PH10, vs. la fosfatasa ácida que trabaja más eficientemente cuando $\text{PH} < 7$). En general la actividad de la fosfatasa alcalina se asocia con las microvellosidades de células secretoras y absorbentes tales como el epitelio de los canalículos biliares, tracto intestinal, túbulos renales y placenta. También se encuentra en las células hepáticas y se relaciona con la actividad osteoblásticas de los huesos.

En general esta enzima se excreta a través del hígado, por lo que cualquier obstrucción al flujo de la bilis causa su aumento en sangre. Niveles altos de fosfatasa alcalina en plasma tienen significación clínica en el estudio de los procesos hepáticos y biliares, así como en los relacionados con las enfermedades degenerativas óseas (e.g. raquitismo) y/o metabolismo de los huesos. No obstante los valores también se elevan en circunstancias normales durante el crecimiento del hueso en individuos jóvenes.

Alanín-transaminasa (ALT) (u/l)

Las transaminasas representan un conjunto de enzimas de especial importancia en el metabolismo proteico. Catalizan reacciones para la biosíntesis de proteínas, así como

para procesos energéticos tales como la gluconeogénesis, o la degradación de los aminoácidos y también intervienen en la formación de productos de excreción nitrogenados.

Esta enzima se encuentra en el citoplasma celular, mayoritariamente en las células del hígado, de ahí que el incremento de sus niveles en plasma reflejen el grado de destrucción de las células hepáticas, debido a algún tipo de patología del hígado.

Aamilasa (AMY) (u/l)

La amilasa es una enzima que hidroliza carbohidratos complejos, como el almidón y el glucógeno. En mamíferos es especialmente abundante en el páncreas. Durante un proceso de pancreatitis las enzimas pueden escaparse al tejido intersticial y de ahí a la cavidad peritoneal, con un aumento de la absorción a través de los vasos linfáticos y las venas, que finalmente se traduce en una elevada concentración de amilasa en sangre. La amilasa sanguínea se excreta por el riñón, por lo que su aumento en sangre va seguido de un incremento de excreción en la orina.

Proteínas totales (TP) (g/dl)

Se han descrito sobre cien proteínas distintas en la sangre de los animales, especializadas en distintas funciones como: transporte, coagulación sanguínea, participación en la respuesta inmune, etc.... Muchas están unidas a lípidos o carbohidratos, y además existe un variado número de enzimas. Las proteínas de la sangre pueden ser divididas en dos grandes categorías: albúminas y globulinas. En esencia, la totalidad de la albúmina y el 60-80% de las globulinas plasmáticas se sintetizan en el hígado, a partir de las proteínas del alimento (aminoácidos). El resto son producidas por las células plasmáticas y linfocitos B de los tejidos linfoides en respuesta a estímulos antigénicos y son, sobre todo, gammaglobulinas que constituyen los anticuerpos.

Concentraciones elevadas de proteínas totales en sangre (hiperproteinemias) son debidas bien el aumento de la albúmina por deshidratación (debido a la ingesta deficitaria

de agua o por excesiva pérdida de la misma) o bien a la elevación de globulinas producidas por inflamaciones crónicas. La hipoproteinemia se debe bien a la disminución de la albúmina por enfermedades renales (que provocan la pérdida de grandes cantidades de albúmina por la orina), insuficiencia hepática (que reduce la síntesis de proteínas en el hígado) o enteropatías que cursan con pérdida de proteínas, o bien por la disminución de las globulinas en los casos de inmunodeficiencia.

La concentración sanguínea de proteínas totales difiere si la medición se hace a partir de plasma o de suero. El plasma sanguíneo es la fracción líquida (matriz extracelular) de la sangre, que se obtiene por centrifugación y es el componente mayoritario de la sangre, puesto que representa aproximadamente el 55% del volumen sanguíneo total. El 45% restante está constituido por los solutos de la sangre: células sanguíneas, proteínas, metabolitos orgánicos y compuestos inorgánicos. Si se permite coagular la sangre, el fluido líquido resultante es denominado suero y carece de fibrinógeno (proteína) y otros factores que intervienen en la coagulación de la sangre. La coagulación de la sangre es el proceso por el cual la sangre pierde su liquidez para hacerse sólida, a través de una serie de reacciones químicas por las cuales el fibrinógeno, proteína soluble de la sangre, se transforma en fibrina insoluble, que polimeriza y se entrecruza con otras moléculas de fibrina, formando una malla tridimensional entre cuyas fibras atrapa a otras proteínas, agua, sales y hasta células sanguíneas dando lugar a la formación del coágulo. En el suero, por tanto, no hay fibrinógeno, lo que hace que las determinaciones de proteínas totales en suero y en plasma difieran aproximadamente en un 5%. Por ello es importante precisar si se está trabajando con suero o con plasma. En nuestro caso, puesto que obtuvimos la sangre a través de microcapilares heparinizados, se inhibió la coagulación de la sangre, y por tanto, al estar todavía presente el fibrinógeno, trabajamos con plasma.

Albúmina (ALB) (g/dl)

La albúmina es la proteína más abundante en el plasma (supone entre el 30-50% del total de las proteínas plasmáticas) y la de menor tamaño, lo que hace que sea la molécula más activa en el mantenimiento de la presión osmótica del plasma. Otra de sus funciones

principales es la de ser una proteína ligadora y transportadora general, permitiendo solubilizar sustancias en el plasma y facilitar su transporte. Por tanto, además de transportar, actúa como reservorio móvil de aminoácidos para las proteínas tisulares. Esta capacidad ligadora también inhibe la pérdida de constituyentes, fundamentalmente ácidos grasos, bilirrubina, y minerales a través del riñón.

Valores altos de albúmina en sangre pueden ser debidos a deshidratación. La hipoalbuminemia se debe a pérdidas (e.g. hemorragias o enfermedades renales con exceso de pérdida de albúmina en la orina), síntesis defectuosa por hepatopatías (e.g. hepatitis o cirrosis) o por carencia de materiales plásticos (desnutrición, mala absorción).

Globulinas (GLOB) (g/dl)

La concentración de globulinas se obtiene restando la concentración de albúmina de la concentración de proteínas totales.

Las globulinas se dividen electroforéticamente en alfa-, beta- y gamma-. Las alfa- y betaglobulinas tienen función transportadora, mientras que las gammaglobulinas se corresponden con los anticuerpos o inmunoglobulinas G, A, M, D y E, cada una con una función específica dentro de la respuesta inmune. Hubiese sido muy interesante conocer la proporción de los distintos tipos de inmunoglobulinas en nuestros animales, sin embargo la limitada cantidad de plasma con la que contamos, y la técnica de análisis empleada, mediante colorimetría y no mediante electroforesis, sólo nos proporcionó una única medida para las globulinas totales.

Hematocrito

El hematocrito no es un parámetro bioquímico, sino hematológico. El valor hematocrito es el porcentaje del volumen que ocupan los eritrocitos en un volumen de sangre total. Por tanto, nos indica la proporción de la sangre que está ocupada por los eritrocitos (glóbulos rojos o hematíes).

Los valores bajos de hematocrito pueden deberse a: anemia, pérdida de sangre (hemorragia), insuficiencia de la médula ósea, leucemia, desnutrición o deficiencia en la dieta, etc... Los valores altos de hematocrito se atribuyen generalmente a un estado de deshidratación y también son muy comunes en animales estresados como consecuencia de la captura y/o manejo para la extracción de sangre. Como parte de la reacción de estrés, se producen catecolaminas (adrenalina, noradrenalina), entre cuyas acciones provocan la contracción del bazo (lugar de almacenamiento de glóbulos rojos). Cuando el bazo se contrae, se liberan glóbulos rojos a la circulación que suministran a la sangre una mayor capacidad de transporte de oxígeno para afrontar una situación normal de pelea, vuelo, huida... Por su causa, sin embargo, el hematocrito (así como el recuento de hematíes y los niveles de hemoglobina (Hb)) están artificialmente altos en las muestras de sangre obtenidas de animales conscientes estresados (Morton *et al.* 2003)

2.4. LOS RANGOS DE REFERENCIA: ALGUNAS CONSIDERACIONES TEORICO-PRÁCTICAS

Dentro del contexto de los parámetros bioquímicos sanguíneos, se entiende como rango (o intervalo) de referencia al conjunto de valores dentro del cual se encuentra un determinado porcentaje, por ejemplo el 95%, de los valores que presentaría una población sana para un determinado parámetro. Este intervalo se utiliza con fines médicos para establecer diagnósticos en los pacientes (Horn *et al.* 1998).

Convencionalmente el intervalo de referencia contiene el 95% de las observaciones más centrales de la distribución (Lumsden y Mullen 1978; Solberg 1987). En consecuencia, los límites de referencia pueden ser estimados como el percentil 0.025 y el 0.095, para el límite inferior y superior, respectivamente. Por tanto, estos límites dejan fuera del intervalo de referencia el 2.5 % de los valores en cada cola de la distribución. Preferiblemente estos límites deberían ir acompañados por intervalos de confianza (por ejemplo, del 90%) (Lumsden y Mullen 1978; Solberg 1987). Estos percentiles, que constituirán los límites del intervalo de referencia, pueden ser estimados mediante métodos paramétricos y no paramétricos.

Métodos paramétricos y no paramétricos

La determinación de los valores de referencia por métodos no paramétricos tiene la ventaja de que puede aplicarse a cualquier conjunto de valores, independientemente de la distribución estadística que éstos presenten, es decir, no asume que los datos provengan de una población normal o gaussiana. Estos métodos, sin embargo, tienen el inconveniente de que requieren una cantidad de datos sustancialmente mayor para obtener la misma precisión en la estimación de los intervalos de referencia que los métodos paramétricos (Reed *et al.* 1971). Realmente estamos hablando de al menos 120 muestras (según NCCLS -The National Commmittee for Clinical Laboratory Standards-), para calcular los límites del intervalo que contenga al 95% de la población con sendos intervalos de confianza del 90% –como estimación de su precisión– para cada uno de los percentiles de 2.5 y 97.5 (Reed *et al.* 1971; Lumsden y Mullen 1978; Solberg 1987; Horn y Pesce 2003).

Por su parte, los métodos paramétricos tienen la limitación de que si los datos no se ajustan a una distribución normal, ni incluso después de intentar transformarlos mediante logaritmos o cualquier otra función, pero son tratados como si lo fuesen, entonces los resultados que se obtengan pueden estar severamente sesgados y sobreestimar o infraestimar los límites de referencia (Reed *et al.* 1971; Shultz *et al.* 1985; Horn y Pesce 2003). Sin embargo, las estimaciones de los percentiles mediante técnicas paramétricas son teóricamente más precisas que las obtenidas por métodos no paramétricos para tamaños muestrales pequeños (Reed *et al.* 1971; Lumsden y Mullen 1978; Solberg 1987).

¿Subgrupos o un único grupo homogéneo?

Puesto que el intervalo de referencia es el rango que recoge los valores característicos de una población sana, hay que tener en cuenta que aún estando sanos todos los individuos, puede haber distintas tendencias, como por ejemplo, una distribución bimodal, que segregue a machos y a hembras. Es por tanto necesario tener en cuenta el efecto de la edad, el sexo, la condición reproductora, el hábitat, la localidad, el tipo de captura y manejo, o cualquier otro factor que subdivida la población en subclases con una

base fisiológica y comprobar si, efectivamente, es necesario tratar los subgrupos de forma independiente y determinar los rangos de referencia separadamente. La segregación de la muestra en subclases crea grupos más homogéneos y reduce la variación entre individuos. A su vez, una menor variación dentro de cada clase conduce a la obtención de unos intervalos de referencia más estrechos y sensibles (Harris y Boyd 1990). Por el contrario, agrupar subclases tiene la ventaja de que nos permite aumentar el tamaño muestral y con ello la fiabilidad de nuestras estimas, pero también puede hacer que se diluyan los efectos del sexo, localidad, edad, estado reproductivo, etc... si las hubiese, y con ello perder información sobre el subgrupo de interés (Solberg 1987; Horn y Pesce 2003). La recomendación es que dos o más subgrupos deberían combinarse en un único grupo siempre que no difieran estadísticamente (Harris y Boyd 1990).

Valores fuera de rango o *outliers*

Son valores atípicos muy extremos, que pueden influenciar desproporcionadamente los límites de referencia (Horn y Pesce 2003). Entre las posibles fuentes de origen de los outliers se incluyen: errores humanos en el registro de los datos, errores de los analizadores automáticos de laboratorio o también los outliers pueden ser indicativos de que un animal está enfermo, es decir que no pertenece a la población “sana” para la que queremos establecer los valores de referencia.

La presencia de valores fuera de rango hace que los límites del intervalo de referencia sean más amplios, dando pie por tanto a la inclusión de falsos negativos, y reduciendo su potencial de diagnóstico (Lumsden y Mullen 1978; Horn y Pesce 2003). Por esta razón los *outliers* deben de ser eliminados antes de calcular los intervalos de referencia.

2.5. ANÁLISIS DE LOS DATOS: PROCEDIMIENTO

A partir del planteamiento descrito en la sección anterior se derivan una serie de análisis que es necesario efectuar con un orden concreto para determinar los rangos de

referencia de forma correcta. El procedimiento seguido no es otro que el recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica, tomado de Solberg (1987) y Horn (2003), y adaptado para el presente caso de estudio. El procedimiento incluye los siguientes pasos:

1) Segregar la población en subclases, atendiendo a una base fisiológica, siempre que éstas subclases pudieran potencialmente presentar distintos valores para cada parámetro en cuestión.

En el presente estudio hemos extraído muestras sanguíneas de *Chionomys nivalis* procedentes de cuatro localidades, aunque el escaso número de muestras para dos de estas localidades hace que las comparaciones estadísticas sólo puedan llevarse a cabo entre dos de ellas: Pirineos y Peñalara. Asimismo el sexo y la condición reproductora pueden ser factores que introduzcan diferencias entre subgrupos.

2) Evaluar estadísticamente la diferencia entre las subclases y en función del resultado mantenerlas unidas o separadas.

Las subclases de interés para este estudio son, por tanto, la localidad, el sexo y la condición reproductora del animal en el momento de la extracción de sangre. Las posibles diferencias entre subgrupos se investigaron mediante técnicas no paramétricas. Puesto que los factores considerados dan cabida a dos posibles subgrupos (i.e. Pirineos vs. Peñalara en el factor localidad, hembras vs. machos en el factor sexo, reproductor vs. no reproductor, en el factor condición reproductora) utilizamos el test de Kolmogorov-Smirnov para comparar cada par de distribuciones. Éste test evalúa si dos muestras (o subpoblaciones) proceden de la misma población (o de poblaciones con la misma distribución de frecuencias), siendo sensible a cualquier tipo de diferencias entre sus distribuciones, con lo que no sólo evalúa la media o la mediana, como la mayoría de los test entre dos muestras, sino que también evalúa diferencias en la forma de la distribución (dispersión, sesgo, etc....) (Siegel y Castellan 1988).

3) Identificar posibles outliers o valores extremos atípicos de cada (sub)población.

Si los datos no son normales se recomienda transformarlos pues es más fácil identificar los outliers en una muestra cuya distribución sea normal. La detección se puede realizar mediante inspección visual del histograma de frecuencias, pero conviene

comprobarlo analíticamente. Nosotros aplicamos un sencillo método de detección de outliers por el cual se descartan aquellos valores que disten más de 3 desviaciones estándar (s.d.) de la media (Solberg 1987; Horn *et al.* 1998). Este método es aplicable sólo para distribuciones normales, y es de uso muy común (véase por ejemplo Paul-Murphy *et al.* 1994 y Nordoy y Thorensen 2002).

4) Definir los rangos de referencia para cada (sub)población.

El reducido tamaño muestral con el que contamos, que en el mejor de los casos, cuando no es necesario segregar la población en subgrupos, alcanza los 36 individuos, hace que el método paramétrico sea el más apropiado para estimar con precisión los rangos de referencia (Reed *et al.* 1971; Lumsden y Mullen 1978; Solberg 1987). Éste método se ha mostrado satisfactorio en diversos estudios con tamaños muestrales inferiores al nuestro, en concreto para n desde 7 a 21 individuos (Paul-Murphy *et al.* 1994; Nordoy y Thorensen 2002; Trumble y Castellini 2002; Whiting *et al.* 2007).

El método paramétrico implica (Lumsden y Mullen 1978; Shultz *et al.* 1985; Solberg 1987; Horn y Pesce 2003):

- que los datos sean normales, por lo que hay que comprobar la normalidad de los datos estadísticamente mediante una prueba chi-cuadrado de ajuste de la bondad, Kolmogorov-Smirnov para una muestra, Shapiro-Wilk's, etc.... Nosotros utilizamos el test de Shapiro-Wilk's por su mayor poder discriminativo (StatSoft 2001).
- o normalizarlos mediante la aplicación de diversas funciones matemáticas, siendo las más comunes, la transformación logarítmica, la raíz cuadrada y la exponencial.
- calcular los límites del intervalo de referencia (95%) como:

$$\text{Valor medio} \pm 1.96 \text{ desviación estándar}$$

- calcular el intervalo de confianza (90%) para cada uno de los límites definidos, como: (Detalles de la fórmula en Solberg (1987)).

$$\text{Valor medio} \pm 2.81 * \frac{\text{desviación estándar}}{\sqrt{n}}$$

- volver a transformar los valores a la escala original, aplicando la función inversa.

Una vez establecidos los valores de referencia para cada parámetro exploramos su variación en función del peso de los individuos mediante correlaciones lineales.

En todos los casos consideramos diferencias estadísticamente significativas entre muestras a aquellas asociadas con valores de $p < 0.05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA v. 6.0. (StatSoft 2001).

3. RESULTADOS

3.1. ORIGEN DE LAS MUESTRAS

La distribución de las 36 muestras sanguíneas de topillo nival recolectadas, según la localidad de procedencia, el sexo y el estado reproductor, se resume en la Tabla 5-1. Como se puede observar, el tamaño muestral de Sierra Nevada y de Sierra Cebollera es muy reducido en comparación con el de las localidades de Pirineos y Peñalara. Por este motivo, los análisis principales entre localidades se han realizado en primer lugar entre Pirineos y Peñalara, y posteriormente, siempre que ha sido posible, es decir, en aquellos parámetros en los que no se han observado diferencias significativas, se han incorporado las muestras de S.Nevada y S.Cebollera, con el fin de ampliar el tamaño muestral y recoger la mayor variabilidad interpoblacional.

Una variación adicional es el efecto de la estación: ninguno de los animales de Peñalara presentó signos de reproducción en el momento de su captura. Eso es debido a que los muestreos en esta localidad se realizaron en otoño, época en la que los individuos ya no se reproducen en Peñalara (c.f. Capítulo 2). La población de Pirineos, sin embargo, fue muestreada en julio, cuando la mayoría de los animales son reproductores, pero también hay algunos no reproductores, lo que nos permitirá estudiar el efecto de la condición reproductora sobre los parámetros sanguíneos.

	No Repr.		Repr.		Totales:
	Hembra	Macho	Hembra	Macho	
Pirineos	1	2	8	9	20
Peñalara	7	3			10
S.Nevada		1	1	2	4
S.Cebollera			2		2

Tabla 5-1.- Distribución de las 36 muestras sanguíneas de topillo nival según la localidad de procedencia, el sexo y la condición reproductora del animal en el momento de la extracción de sangre (No Repr. = animal no reproductor; Repr. = animal reproductor).

Como la muestra es heterogénea en procedencia, sexo y estado reproductor, para establecer unos valores de referencias no puede ser analizada como un todo, sino que hay que estudiar el efecto de cada uno de los factores (sexo, localidad y estado reproductor) para ver si es necesario segregar la población en subgrupos caracterizados por presentar rangos de referencia particulares para cada parámetro. A continuación presentamos los resultados de estos análisis, no sin antes haber evaluado la calidad de las muestras.

3.2. CALIDAD DE LAS MUESTRAS Y FIABILIDAD DE LAS DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

La hemólisis, lipemia o ictericia de la sangre pueden interferir con la lectura de los distintos parámetros bioquímicos cuando se emplean técnicas colorimétricas. La hemólisis es la ruptura de los eritrocitos, que se produce frecuentemente durante la extracción de sangre, tiñendo el plasma de color rojo como consecuencia de la liberación de la hemoglobina. La lipemia se produce por una elevada concentración de lípidos en sangre, que a menudo se observa cuando el animal ha comido recientemente y la digestión y absorción de los nutrientes están en pleno proceso. De ahí que los análisis deban hacerse idealmente en condiciones de ayuno (lo cual es imposible de controlar en animales silvestres). La lipemia produce turbidez del suero. La ictericia o hiperbilirrubinemia se producen como consecuencia del fallo hepático y conlleva el incremento de los valores de bilirrubina en sangre hasta tal punto que el plasma se presenta de color amarillento.

El hecho de que el plasma, en vez de ser casi transparente, presente un color rojizo, blanquecino o amarillento puede interferir en los procesos de absorción y dispersión de la luz y alterar los resultados de las pruebas colorimétricas, por lo que es importante efectuar un “control de calidad” de las muestras de plasma.

El autoanalizador empleado realiza un control de calidad en el que evalúa el grado de hemólisis, lipemia e ictericia de cada muestra de plasma según una escala de 0, 1, 2, 3 o más de 3. Una muestra que presente valores superiores a 3 en cualquiera de estas variables, no puede ser leída, pues la interferencia de color es demasiado fuerte, y en consecuencia ningún parámetro será determinado para esa muestra. Por el contrario, valores entre 0 y 3 permiten la lectura de los parámetros sanguíneos con igual fiabilidad (información proporcionada por la clínica veterinaria El Bosque, donde fueron analizadas las muestras). Todas nuestras muestras presentaron valor 0 de ictericia, mientras que la mayoría presentaron valor 0 ó 1 de lipemia y un grado 2 de hemólisis. En cualquier caso ninguna muestra presentó un valor superior a 3 con lo que la fiabilidad de las determinaciones colorimétricas de los parámetros bioquímicos fue del 100%, y esto nos permitió abordar las siguientes cuestiones con confianza.

3.3. DIFERENCIAS ENTRE SEXOS

Examinamos las diferencias entre sexos para cada localidad, no encontrando diferencias significativas entre hembras y machos para ninguno de los parámetros estudiados en Peñalara (Kolmogorov-Smirnov Test, $p > 0.1$ en todos los casos), lo que nos permite mantener la población de Peñalara como un único grupo homogéneo en cuanto al factor sexo se refiere.

En Pirineos, por el contrario, encontramos diferencias en los valores de bilirrubina total, siendo significativamente superiores en las hembras (Kolmogorov-Smirnov Test, $p < 0.01$. Medias y desviaciones estándar en Tabla 5-2). Con el objetivo de comprobar si estas diferencias eran originadas más bien por los altos valores de bilirrubina total de las hembras o por los bajos valores de los machos, comparamos independientemente estos

datos con los valores de bilirrubina total de las hembras de Peñalara, y con los de los machos de Peñalara. En la Tabla 5-2 se recogen los resultados de estos análisis, pudiéndose observar que los valores de TBIL de las hembras de Pirineos son significativamente más elevados que los del resto de las hembras, mientras que los de los machos de Pirineos entran dentro del rango de los demás machos estudiados. Es más, los valores de bilirrubina total de las hembras de Pirineos difieren muy significativamente de los del resto de las muestras analizadas para este análisis en su conjunto (machos de Pirineos más toda Peñalara). Estos resultados nos obligan a considerar a las hembras de Pirineos como un subgrupo separado, para el que habrá que calcular un rango de referencia específico para este parámetro en cuestión.

BILIRRUBINA TOTAL			Nivel significación		Media \pm s.d.	N
1	Pirineos, dif. en sexo	TBIL hembras	$p < .01$	**	0.91 ± 0.31	8
		TBIL machos			0.49 ± 0.20	10
2	Hembras, dif. en localidad	TBIL hembras PIRI	$p < .01$	**	0.91 ± 0.31	8
		TBIL hembras PÑ			0.50 ± 0.12	7
3	Machos, dif. en localidad	TBIL machos PIRI	$p > .10$		0.49 ± 0.20	10
		TBIL machos PÑ			0.57 ± 0.12	3
4	Localidad*sexo	TBIL hembras PIRI	$p < .005$	**	0.91 ± 0.31	8
		TBIL machos PIRI+PÑ			0.51 ± 0.16	20

Tabla 5-2.- Comparaciones mediante el test de Kolmogorov-Smirnov de la distribución de los niveles de bilirrubina total entre machos y hembras en Pirineos, para cada sexo entre localidades, y considerando el factor combinado de la localidad y el sexo.

3.4. DIFERENCIAS ENTRE ESTADOS REPRODUCTORES

Las posibles diferencias debidas a la condición reproductora de los animales en el momento de la captura sólo fueron estudiadas en los neverones de Pirineos, y no se encontraron diferencias entre los animales reproductores y los no reproductores en ninguno de los parámetros estudiados (Kolmogorov-Smirnov Test para pares de muestras, $p > 0.05$ en todos los casos), lo que nos permite mantener agrupados los individuos reproductores y los no reproductores.

3.5. DIFERENCIAS ENTRE LOCALIDADES

A partir de los análisis realizados hasta ahora tenemos que: la población de Peñalara puede considerarse como un todo, pues no presenta diferencias atribuibles al sexo ni a la condición reproductora. Por su parte, la población de Pirineos puede considerarse también como un grupo homogéneo de todos los individuos a excepción de cuando se trata de estudiar la bilirrubina total, parámetro para el cual es necesario segregar las hembras de esta población pues presentan diferencias significativas. Abordamos ahora el siguiente paso, que es comparar las poblaciones de Pirineos y Peñalara entre sí, para determinar hasta qué punto existen diferencias entre ambas o pueden considerarse parte de la misma muestra.

La comparación de la distribución de los valores obtenidos para cada uno de los parámetros sanguíneos entre las poblaciones de Pirineos y Peñalara, arrojó diferencias significativas sólo para la amilasa, la urea y el potasio (Tabla 5-3).

Al igual que en el caso anterior quisimos profundizar en el origen de estas diferencias entre localidades, para lo que comprobamos si las diferencias podían ser debidas al sexo de los individuos (Tabla 5-3). Las machos de Pirineos y Peñalara no difirieron en los valores de amilasa, urea, ni potasio. Las hembras de estas dos localidades tampoco difirieron en la amilasa, pero sí en la urea, presentando las hembras de Pirineos unos valores significativamente más elevados, sin embargo estos elevados valores de las hembras de Pirineos no fueron suficiente como para explicar la diferencia observada entre la población de Pirineos y de Peñalara. Estos resultados nos indican que el origen de la diferencia en los valores de amilasa y urea entre Pirineos y Peñalara no se debe al sexo, sino a otro factor hasta ahora desconocido por nosotros, lo que nos obliga a considerar Pirineos y Peñalara como dos subgrupos independientes con respecto a los parámetros “amilasa” y “urea”. Por su parte, las hembras de Pirineos y Peñalara sí difieren significativamente en los valores de potasio, con unos niveles superiores para las hembras de Peñalara. En esta ocasión las diferencias entre las hembras de Peñalara frente al resto de los individuos de este análisis (machos de Peñalara más todo Pirineos) se mantienen, con

lo que parece necesario separar un subgrupo constituido por las hembras de Peñalara y calcular los rangos de referencia para el mismo con respecto al parámetro “potasio”.

AMILASA			Nivel significación	Media \pm s.d.	N
1	Dif. en localidad	AMY PIRI AMY PÑ	$p < .001$ ***	450.5 \pm 122.4 266.7 \pm 99.3	19 10
2	Hembras, dif. en localidad	AMY hembras PIRI AMY hembras PÑ	$p > .10$	440.4 \pm 140.7 268.1 \pm 106.3	8 7
3	Machos, dif. en localidad	AMY machos PIRI AMY machos PÑ	$p > .10$	457.9 \pm 113.8 258.5 \pm 105.4	11 3

UREA			Nivel significación	Media \pm s.d.	N
1	Dif. en localidad	BUN PIRI BUN PÑ	$p < .01$ **	38.6 \pm 11.7 21.4 \pm 12.0	16 9
2	Hembras, dif. en localidad	BUN hembras PIRI BUN hembras PÑ	$p < .025$ **	41.6 \pm 11.9 20.3 \pm 6.4	8 6
3	Machos, dif. en localidad	BUN machos PIRI BUN machos PÑ	$p > .10$	35.6 \pm 11.5 23.7 \pm 7.6	8 3
4	Localidad*sexo	BUN hembras PIRI BUN machos PIRI+PÑ	$p > .10$	41.6 \pm 11.9 28.1 \pm 11.5	8 17

POTASIO			Nivel significación	Media \pm s.d.	N
1	Dif. en localidad	K PIRI K PÑ	$p < .05$ *	5.4 1.4 6.3 1.1	17 9
2	Hembras, dif. en localidad	K hembras PIRI K hembras PÑ	$p < .025$ *	5.2 1.4 6.6 0.8	8 6
3	Machos, dif. en localidad	K machos PIRI K machos PÑ	$p > .10$	5.7 1.4 5.9 1.7	9 3
4	Localidad*sexo	K hembras PÑ K machos PÑ+PIRI	$p < .05$ *	6.6 0.8 5.5 1.4	6 20

Tabla 5-3.- Comparaciones mediante el test de Kolmogorov-Smirnov de las distribuciones de los niveles de amilasa, urea y potasio entre localidades, para cada sexo entre localidades, y considerando el factor combinado de la localidad y el sexo.

En cuanto a S.Cebollera y S.Nevada, el pequeño tamaño muestral con el que contamos hace que no sea representativo de las poblaciones, con lo que no tiene sentido establecer comparaciones entre estas localidades y otras. No obstante, para aquellos parámetros que se comportaron como un único grupo homogéneo formado por todas las

muestras de ambos sexos de Pirineos y Peñalara, comprobamos si los valores registrados para S.Cebollera y S.Nevada se ajustaban a esa misma distribución, y así aumentar la representatividad de estos parámetros. Para ello, primero aunamos S.Cebollera y S.Nevada para aquellos parámetros en los que estas dos poblaciones no mostraron diferencias significativas, testadas mediante Kolmogorov-Smirnov, lo que nos permitió aumentar el tamaño muestral al constituir un único grupo. Posteriormente, comparamos si este nuevo grupo mixto S.Cebollera-S.Nevada se ajustaba a la distribución del gran grupo Pirineos-Peñalara. En los parámetros en los que no hubo diferencias, se incluyeron los valores de S.Cebollera y S.Nevada en los cálculos de los intervalos de referencia.

3.6. RANGOS DE REFERENCIA PARA *C.NIVALIS*

Los análisis realizados en las secciones previas nos han puesto de manifiesto la existencia de varios subgrupos cuyos valores presentan distribuciones significativamente diferentes, y necesitan ser considerados separadamente a la hora de calcular los rangos de referencia para determinados parámetros. Esto hace que el requisito de normalidad para calcular estos rangos de referencia basándose en métodos paramétricos tenga que ser evaluado para cada uno de estos subgrupos.

Según el test de Shapiro-Wilk's los valores de todos los parámetros analizados se ajustaron a una distribución normal ($p < 0.05$) a excepción de la amilasa para el subgrupo formado por los individuos de Peñalara y la albúmina y las globulinas para el conjunto de todas las muestras. Estas variables fueron normalizadas tomando la raíz cuadrada, en el caso de la amilasa, mediante la función exponencial (\exp , número e elevado al valor) en el caso de la albúmina y aplicando logaritmos neperianos (\log en base e) en el caso de las globulinas. Tras calcular los rangos de referencia y los intervalos de confianza se volvieron a transformar los valores a la escala original aplicando la función opuesta en cada caso.

Basándonos en esos subgrupos presentamos en la Tabla 5-4 los rangos de referencia obtenidos para los distintos parámetros bioquímicos.

Parámetro	Subgrupo	N	Media	Dsv. Std.	Mediana	Mínimo	Máximo	RANGO REFERENCIA	Intervalo Confianza 90%			
									Min.Lim.Inf.	Max.Lim.Inf.	Min.Lim.Sup.	Max.Lim.Sup.
ALB (g/dl)	Todos	34	5.1	3.9	5.2	3.9	5.6	4.1	2.2	6.0	3.7	7.5
ALP (u/l)	Todos	31	175.6	50.3	171.0	88.0	287.0	77.1	51.7	102.5	248.8	299.5
ALT (u/l)	Todos	34	117.6	31.7	124.5	65.0	188.0	55.4	40.1	70.7	164.5	195.0
AMY (u/l)	{ Pirineos	19	450.5	122.4	435.0	211.0	615.0	210.7	131.8	289.6	611.5	769.3
	{ Peñalara	10	232.7	14.4	191.0	63.0	443.0	61.0	48.2	73.8	502.5	528.1
BUN (mg/dl)	{ Pirineos	16	38.6	11.7	38.0	21.0	56.0	15.7	7.5	23.9	53.3	69.7
	{ Peñalara	9	21.4	6.6	22.0	12.0	32.0	8.6	2.4	14.7	28.2	40.4
CA (mg/dl)	Todos	28	11.0	1.2	11.0	8.3	13.8	8.6	8.0	9.2	12.7	14.0
CRE (mg/dl)	Todos	32	0.6	0.2	0.6	0.2	0.9	0.2	0.1	0.3	0.9	1.1
FOS (mg/dl)	Todos	30	4.3	1.5	4.3	1.8	8.1	1.4	0.6	2.2	6.5	8.0
GLOB (g/dl)	Todos	34	0.9	1.7	0.9	0.3	2.2	0.3	-0.5	1.1	1.7	3.3
GLU (mg/dl)	Todos	25	102.6	30.0	103.0	53.0	165.0	43.8	26.9	60.7	144.6	178.3
K (mmol/l)	{ Hembras PñL	6	6.6	0.8	6.3	5.7	7.7	5.0	4.0	5.9	7.3	9.2
	{ resto1	20	5.5	1.4	5.1	3.3	8.5	2.7	1.9	3.6	7.4	9.1
NA (mmol/l)	Todos	30	138.1	7.5	138.0	121.0	155.0	123.4	119.5	127.2	149.0	156.8
TBIL (mg/dl)	{ Hembras PIRI	8	0.9	0.3	0.9	0.4	1.4	0.3	0.0	0.6	1.2	1.8
	{ resto2	25	0.5	0.1	0.5	0.3	0.7	0.2	0.2	0.3	0.6	0.8
TP (g/dl)	Todos	34	6.0	0.4	6.0	5.1	6.8	5.2	5.0	5.4	6.6	6.9
HEMATC. (%)	Todos	26	46.7	3.4	46.5	39.0	54.0	40.1	38.2	41.9	51.4	55.1

Tabla 5-4.- Rangos de referencia de los 14 parámetros bioquímicos estudiados y el valor hematocrito del topillo nival. Los límites están calculados como el percentil 95 centrado de la distribución (media \pm 1.96 desviación estándar.), y van acompañados del intervalo de confianza del 90%. Se incluyen también los tamaños muestrales (N), la media y la desviación estándar, la mediana, el valor mínimo y el máximo.

Las abreviaturas de los parámetros se corresponden con: Amy amilasa, Alb albúmina, Alp fosfatasa alcalina, Alt alanin-transaminasa, Bun ure, Ca calcio, Fos fosforo, Cre creatinina, K potasio, Na sodio, Tp proteínas totales, Glob globulinas, Glu glucosa, Tbil bilirrubina total, Hemate. valor hematocrito.

El subgrupo *Resto1* se refiere a los machos de Peñalara más todas las muestras de Pirineos. El subgrupo *Resto2*, a los machos de Pirineos más todas las muestras de Peñalara.

3.7. VARIACIÓN CON EL PESO

Algunos parámetros bioquímicos varían también con la edad o el tamaño corporal de los individuos. Por ejemplo, la fosfatasa alcalina presenta valores más elevados en individuos jóvenes en fase de crecimiento óseo que en adultos, y la concentración plasmática de la creatinina es función de la masa muscular. En los análisis que presentamos a continuación utilizamos el peso de los animales como reflejo de la edad y la masa corporal. Los individuos con un menor peso serán los individuos de menor tamaño, más jóvenes y con un menor desarrollo corporal, por el contrario, los más pesados son los más grandes, en tamaño y edad.

Utilizamos análisis de correlación lineal para evaluar el posible efecto del peso de los individuos dentro de los intervalos de referencia establecidos para cada parámetro sanguíneo. No obstante, primero comprobamos que no había diferencias significativas en el peso de los individuos de las distintas poblaciones constituyentes de cada subgrupo (Kolmogorov-Smirnov test, $p > 0.05$).

Fueron pocos los parámetros afectados por el peso de los individuos. La albúmina, la urea y la bilirrubina total presentaron una tendencia decreciente con el aumento de peso de los topillos para el conjunto de las muestras, para el subgrupo de Peñalara y para las hembras de Pirineos, respectivamente. Por el contrario, las globulinas aumentaron directamente con el peso en el conjunto de todas las muestras (Tabla 5-5).

Parámetro	Subgrupo	r^2	r	p	N
Albúmina	Todos	0.27	-0.52	< 0.01	34
Urea	Peñalara	0.62	-0.78	< 0.02	9
Globulinas	Todos	0.2	0.45	< 0.01	34
Bilirrubina total	Hembras Pirineos	0.61	-0.79	0.04	8

Tabla 5-5.- Correlaciones lineales significativas entre el peso y los valores de referencia calculados para cada uno de los parámetros sanguíneos estudiados. r^2 = coeficiente de determinación, r = coeficiente de correlación, p = nivel de significación y N = tamaño muestral del subgrupo.

4. DISCUSIÓN

Para 10 de los 15 parámetros evaluados, 14 descriptivos del perfil bioquímico plasmático más el valor hematocrito, los topillos nivales de este estudio constituyen un grupo homogéneo en cuanto a su caracterización bioquímica, lo que nos permite recoger toda la variabilidad observada en un único intervalo de referencia representativo de toda la población (hembras, machos, individuos reproductores y no reproductores y procedentes de cualquier localidad), para cada parámetro. Para los cuatro parámetros en los que esta homogeneidad se rompe (amilasa, urea, potasio y bilirrubina total) fue necesario segregar la población en subgrupos que presentaron diferencias significativas en la distribución de valores de los parámetros mencionados. No obstante, para confirmar la representatividad de los rangos de referencia obtenidos sería recomendable ampliar el estudio con más muestras de las localidades menos representadas, así como evaluar el posible efecto debido a la condición reproductora en más poblaciones. En cualquier caso, hasta que estas deficiencias sean subsanadas, el estudio sobre la bioquímica sanguínea que hemos realizado constituye la primera aproximación a los valores de referencia bioquímicos específicos para *Chionomys nivalis*.

Como se ha mencionado anteriormente, no se ha encontrado en la bibliografía información alguna sobre los parámetros bioquímicos de referencia en Microtininos silvestres, y dentro de los roedores, la información disponible se limita a los roedores de laboratorio: ratón rata, cobaya o conejillo de Indias y hámster (Donald Caisey y King 1980; Olfert *et al.* 1998; Campbell 2004a). Una comparación rápida de los rangos de referencia obtenidos para el topillo nival con los de estas especies nos indica que si bien algunos de los parámetros presentan muy poca variación entre especies de roedores (como el calcio, la creatinina, el sodio...), otros sí que presentan rangos no solapantes y característicos para cada especie. En este sentido, por ejemplo, las concentraciones de alanín-transaminasa, fosfatasa alcalina y proteínas totales registradas en los topillos nivales, entran dentro de los rangos establecidos para los ratones de laboratorio, mientras que los valores de albúmina se ajustan más a los conocidos para la rata.

Otros parámetros destacan por su elevada variabilidad en los neverones, lo que produce rangos de referencia muy amplios como por ejemplo es el caso de la amilasa y la glucosa. En un pequeño estudio que hemos realizado de forma paralela a este hemos obtenido también los valores de este parámetro para otras dos especies de roedores silvestres, en las que también hemos encontrado una variabilidad muy grande en los valores de amilasa (valores mínimo y máximo para *Microtus cabrerae*: 146-683 u/l (n=7) y *Apodemus sylvaticus*: 181-1869 u/l (n=14)). En la cabra montés (*Capra pyrenaica*), por ejemplo, la amilasa también presenta una variabilidad extrema (valor mínimo y máximo: 2.9-3280 u/l; n=95) (Pérez *et al.* 2003). Niveles altos de amilasa en plasma pueden ser indicativos de pancreatitis. No obstante, la utilidad de la amilasa plasmática como herramienta de diagnóstico del daño pancreático varía según las especies, por ejemplo, en perros aumenta, pero también puede estar asociado a otras enfermedades, mientras que en gatos no se altera.

Por su parte, el rango de referencia derivado para la glucosa también presenta una mayor amplitud que la que se conoce para los roedores de laboratorio (Campbell 2004a). Según se ha descrito en el apartado de metodología, la glucosa es un parámetro cuya concentración en el plasma debe permanecer dentro de un rango muy estrecho, debido a su importante función vital. La amplitud del rango que hemos encontrado en los topillos nivales estudiados en comparación con otros roedores, nos hace pensar que estos valores podrían estar algo alterados, en concreto, el límite inferior, que es con diferencia el menor entre las especies comparadas (ratas, ratones, cobayas y hámsters de laboratorio). Es conocido que el valor de glucosa puede disminuir *in vitro* después de haberse extraído la sangre, pues los glóbulos rojos seguirán consumiendo glucosa en el tubo a una tasa aproximada del 10% cada hora (Duane Lassen 2004). Por eso es importante no dejar transcurrir mucho tiempo desde la extracción de la sangre hasta su centrifugación y separación del plasma y las células sanguíneas. En nuestras muestras, este proceso se demoró en el peor de los casos 3 horas, pudiendo ser causa parcial, pero creemos que no suficiente como para explicar los bajos valores de glucosa detectados en algunos animales (53 mg/dl). La mayoría de los animales fueron capturados en algún momento durante la noche, por lo que permanecieron en las trampas entre una y ocho horas hasta que efectuábamos la revisión de la mañana, les extraíamos la sangre y posteriormente les

liberábamos. Aunque las trampas siempre se cebaron generosamente y los animales nunca llegaron a consumir todo el cebo, es posible que durante las horas de cautiverio en las trampas los animales redujeran su ritmo de ingesta natural debido a la situación de alerta que les generaría estar en un medio desconocido (el interior de la trampa). Entonces los niveles de azúcar en sangre irían disminuyendo, pues el metabolismo continúa, aunque sin reemplazo, porque la ingesta no fue suficiente. Esto implicaría que la disminución de glucosa en sangre está directamente correlacionada con el tiempo de permanencia en las trampas. Podemos calcular el tiempo máximo que un animal pasa en la trampa (tiempo entre revisiones), pero no el tiempo exacto que lleva, porque desconocemos el momento en el que cayó en la trampa. Si utilizamos este tiempo máximo y lo contrastamos con los niveles de glucosa, efectivamente observamos que a más tiempo, menor es la concentración detectada de glucosa (correlación lineal, $p = 0.02$, $R = -0.38$, $R^2 = 0.15$). Insistimos que esta relación sería mucho más precisa, y posiblemente más fuerte si pudiésemos conocer el tiempo real que los animales pasan en las trampas. Esta hipótesis podría ser rebatida por el hecho de que cuando la absorción de nutrientes (entre ellos la glucosa) en el intestino finaliza (porque el animal ya no coma más), el glucógeno acumulado en el hígado constituye una fuente de reserva de glucosa para las células musculares. Sin embargo, un experimento realizado con *Clethrionomys rufocanus* y *C. rutilus*, indica que estas reservas de glucosa se agotan en las primeras 6 horas de ayuno (Mosin 1982). Se desconoce con exactitud en cuanto tiempo se agotan estas reservas de glucógeno pues el intervalo de medición de aquel estudio era cada 6 horas, pero sus autores creen que el glucógeno se agota bastante antes de las 6 horas, porque para entonces el nivel de glucosa en sangre está ya muy disminuido. Por otra parte la recuperación de los niveles de glucosa en sangre como consecuencia de la gluconeogénesis no se produjeron hasta pasadas las 12 horas de ayuno en los topillos estudiados (Mosin 1982). Consideramos pues, que los bajos niveles de glucosa en sangre detectados se deben a que los animales han podido estar hasta 8 horas encerrados en las trampas sin alimentarse a su tasa normal, aspecto que debería ser controlado para obtener un rango de referencia más riguroso de los niveles de glucosa en sangre.

Si recordamos de los análisis realizados, hay cuatro parámetros bioquímicos para los que ha sido necesario segregar la población debido a la existencia de diferencias entre

subgrupos. Estos parámetros eran la amilasa y la urea (con diferencias entre Pirineos y Peñalara), el potasio (con diferencias entre las hembras de Peñalara y el conjunto formado por los machos de Peñalara más los individuos de Pirineos) y la bilirrubina total (con diferencias entre las hembras de Pirineos y el subgrupo constituido por los machos de Pirineos más los individuos de Peñalara). No tenemos ninguna explicación que pueda ayudarnos a entender estas diferencias. Únicamente podríamos especular sobre las diferencias en los niveles de urea entre Pirineos y Peñalara. La concentración de urea en sangre está relacionada con la destrucción de proteínas, el grado de hidratación y la función renal. Elevados valores de urea plasmática pueden ser por tanto el resultado de una tasa de destrucción de proteínas más elevada, bien procedentes del tejido o derivadas de una dieta con mayor contenido proteico. La diferencia en los valores observados de urea en sangre entre los topillos navales de Pirineos y de Peñalara podrían ser el reflejo del contenido diferencial de nitrógeno en las herbáceas del entorno, y por tanto de la calidad del hábitat, como así ha sido sugerido para otras especies de herbívoros, como la cabra montés (*Capra pyrenaica*) o el muflón canadiense (*Ovis canadensis*) (Franzmann 1972; Pérez *et al.* 2003).

En cuanto a las correlaciones observadas entre algunos de los parámetros y el peso de los individuos tampoco podemos ofrecer una verdadera explicación. Por ejemplo, la relación negativa entre el nivel de bilirrubina total y el peso en las hembras de Pirineos se pierde si eliminamos las dos hembras con pesos más extremos que son las que realmente generan esta tendencia, lo que nos hace pensar que la relación observada es azarosa. Asimismo, tampoco tiene una explicación fácil el hecho de que en Peñalara, la concentración de urea en sangre disminuya con el peso, cuando en Pirineos el patrón, aunque no significativo, es el opuesto. Los mayores valores de albúmina en los individuos con menor peso podrían deberse a un mayor grado de deshidratación. Una deshidratación más rápida en el tiempo de permanencia en las trampas podría producirse en los individuos de menor tamaño asociada a necesidades fisiológicas (e.g. un metabolismo más rápido porque el individuo está todavía en fase de crecimiento) y/o a una cuestión entre la relación de la superficie y el volumen corporal, que favorezca más la pérdida de agua en los animales de menor tamaño. También podría ser que los mayores niveles de albúmina detectados en los individuos más pequeños pudieran estar representado una reserva de

proteínas (ligadas a albúmina para su transporte), en individuos que aún están en crecimiento (Dobrowolska 1975). Por el contrario, la relación positiva entre el peso y la concentración de globulinas podría deberse a que los animales más grandes, han vivido más tiempo y han estado expuestos a más patógenos y agentes infecciosos que los más jóvenes, y por tanto aquellos habrían desarrollado un mayor nivel de anticuerpos, ya que han tenido más tiempo para generar inmunidad a las enfermedades presentes.

En cuanto al único parámetro hematológico que hemos evaluado, el hematocrito, decir que este valor se mantiene relativamente constante entre los mamíferos, mientras que las dos variables de las que depende, número y tamaño de los glóbulos rojos, sí varían más entre especies (Campbell 2004b). En este sentido los valores medios de hematocrito que hemos observado en los topillos nivales ($46.7 \pm 1.7\%$) caen dentro del rango de valores medios de hematocrito de otras cuatro especies de microtinos (*Microtus arvalis*, *M. agrestis*, *Pitymys subterraneus* y *Clethrionomys glareolus*) cuyo rango conjunto varía entre el 41 y el 55% (Kosteleva-Myrcha 1966a; Kosteleva-Myrcha 1966b; Dobrowolska 1982b; Topashka-Ancheva *et al.* 2003). El valor medio de hematocrito observado en nuestra muestra de neverones de diversas poblaciones de España es idéntico al descrito para una población de neverones en Bulgaria (Topashka-Ancheva *et al.* 2003), y sólo un 4% más bajo que el registrado en una muestra de machos del Sistema Central (España) (Luque-Larena *et al.* 2003), lo que confirma la constancia y homogeneidad de este parámetro en las distintas poblaciones de topillo nival.

A menudo, en las zonas de alta montaña donde los topillos nivales habitan fundamentalmente se empieza a notar la falta de oxígeno, lo que hace que los neverones presenten una concentración de hemoglobina más elevada que otras especies de topillos que ocupan hábitats a menor altitud (Metcheva *et al.* 1997 en Metcheva *et al.* 2008). En este sentido habría sido muy interesante completar el estudio hematológico al menos con la medida de la concentración de hemoglobina en sangre, y compararlo entre poblaciones de neverones residentes a distinta altitud, pues este parámetro responde directamente a los requerimientos de oxígeno y al nivel metabólico de la especie (Kosteleva-Myrcha 1966b).

Enlazando con la frase anterior y para concluir este apartado, insistimos que aún queda mucho trabajo por hacer para conocer con detalle el perfil sanguíneo de esta especie. Así por ejemplo, las hormonas sexuales y casi todos los parámetros hematológicos también quedan pendientes de estudio. Asimismo, somos conscientes de las limitaciones de este trabajo debidas a los bajos tamaños muestrales de algunos de los subgrupos o estratos poblacionales, por lo que sería aconsejable ampliar el estudio bioquímico con más neverones y volver a evaluar las posibles diferencias asociadas al sexo, estado reproductor y localidad. También hay que considerar la dificultad de la obtención de las muestras sanguíneas, que en este estudio se ha realizado exclusivamente en el campo, con animales silvestres vivos, lo que obligatoriamente limita la cantidad de sangre que se puede extraer y en consecuencia el número de parámetros que se pueden analizar. Aceptando estas autocríticas, los datos que aquí presentamos han sido analizados con todo rigor y constituyen la primera contribución al conocimiento de los parámetros bioquímicos del topillo nival, y como tales serán de gran utilidad como punto de referencia de futuros estudios de evaluación de los parámetros plasmáticos de los neverones y su estado de salud.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Campbell, T. W. (2004a). Clinical chemistry of mammals: laboratory animals and miscellaneous species. Pp. 463-477. En: Thrall, M. A. (eds.). Veterinary hematology and clinical chemistry. USA, Lipincott Williams & Wilkins, 518 pp.
- Campbell, T. W. (2004b). Mammalian hematology: laboratory animals and miscellaneous species. Pp. 211-224. En: Thrall, M. A. (eds.). Veterinary hematology and clinical chemistry. USA, Lipincott Williams & Wilkins, 518 pp.
- Christopher, M. M., Berry, K. H., Wallis, I. R., Nagy, K. A., Henen, B. T. y Peterson, C. C. (1999). Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Dessert. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(2):212-238.

- Dobrowolska, A. (1975). Electrophoretic pattern of proteins and glycoproteins in the blood serum of common voles in relation to the season and physiological activity. *Acta Theriologica*, 20 (30):435-441.
- Dobrowolska, A. (1982a). Serum gamma-globulin concentration in different stages of sexual activity in females of common vole, *Microtus arvalis*, Pall. *Comparative biochemistry and physiology*, 71A (3):465-467.
- Dobrowolska, A. (1982b). Variability of hematocrit value, blood serum beta- and gamma-globulin level and body weight in different transferrin genotypes of common vole (*Microtus arvalis*, Pallas 1779) from a natural population. *Comparative biochemistry and physiology*, 73A (1):105-110.
- Dobrowolska, A. y Gromadzka-Ostrowska, J. (1983). Influence of photoperiod on morphological parameters, androgen concentration, haematological indices and serum protein fractions in common vole (*Microtus arvalis*, Pall.). *Comparative biochemistry and physiology*, 74A (2):427-433.
- Donald Caisey, J. y King, D. J. (1980). Clinical chemical values for some common laboratory animals. *Clinical chemistry*, 26:1877-1879.
- Duane Lassen, E. (2004). Perspectives in data interpretation. Pp. 45-53. En: Thrall, M. A. (eds.). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. USA, Lipincott Willians & Wilkins, 518 pp.
- Felasa. (Federation of European Laboratory Animal Science Associations, 2006). Técnico especialista en experimentación animal. Curso para la categoría B. Madrid, Ministerio de Ciencia y Tecnología. CSIC. 476 pp.
- Fletcher, Q. E. y Boonstra, R. (2006). Impact of live trapping on the stress response of the meadow vole (*Microtus pennsylvanicus*). *Journal of Zoology*, 270:473-478.
- Franzmann, A. W. (1972). Environmental sources of variation of bighorn sheep physiologic values. *Journal of Wildlife Management*, 36:924-932.
- González Rodríguez, F. J. (2003). Parámetros hematológicos y bioquímicos en la cabra montés (*Capra pyrenaica* Schinz, 1838): su utilización en la monitorización de poblaciones. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén. Dpto. de Biología animal, vegetal y ecología. Anexos + 206 pp.
- Guyton, A. C. (2001). *Tratado de fisiología médica*. 10ª ed. McGraw-Hill, Madrid. 1280 pp.

- Harris, E. K. y Boyd, J. C. (1990). On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clinical chemistry*, 36(2):265-270.
- Hidalgo-Vila, J. (2006). Hematología y perfil bioquímico sanguíneo en las especies de galápagos *Mauremys leprosa* y *Emys orbicularis*. Aspectos sanitarios y evaluación de la introducción de la especie exótica *Trachemys scripta elegans* sobre la fauna autóctona. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. 308 pp.
- Horn, P. S. y Pesce, A. J. (2003). Reference intervals: an update. *Clinica chimica acta*, 334:5-23.
- Horn, P. S., Pesce, A. J. y Copeland, B. E. (1998). A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clinical chemistry*, 44(3):622-631.
- Jain, N. C. (1986). Schalm's veterinary hematology. Philadelphia, Lea and Febiger. 1221 pp.
- Kosteleva-Myrcha, A. (1966a). Erythrocytes, hemoglobin and hematocrit in the postnatal development of *Pitymys subterraneus* (de Sélys-Longchamps, 185) (Mammalia, Microtidae). *Bulletin de l'académie polonaise des sciences. Série des sciences biologiques*, XIV (6):413-418.
- Kosteleva-Myrcha, A. (1966b). Hemoglobin, erithrocytes and hematocrit in the blood of some Microtidae under laboratory conditions. *Bulletin de l'académie polonaise des sciences. Série des sciences biologiques*, XIV(5):343-349.
- Kosteleva-Myrcha, A. y Myrcha, A. (1966a). Studies of blood leukocytes of some Microtidae under laboratory conditions. *Bulletin de l'académie polonaise des sciences. Série des sciences biologiques*, XIV (5):351-353.
- Kosteleva-Myrcha, A. y Myrcha, A. (1966b). Studies of the blood leukocytes in the postnatal development of *Pitymys subterraneus* (de Sélys-Longchamps, 185) (Mammalia, Microtidae). *Bulletin de l'académie polonaise des sciences. Série des sciences biologiques*, XIV (6):419-424.
- Loeb, W. F. (1989). Clinical biochemistry of laboratory rodents and rabbits. Pp. 866-875. En: Kaneko, J. J. (eds.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press. San Diego, 932pp.
- Lumsden, J. H. y Mullen, K. (1978). On establishing reference values. *Canadian journal of comparative medicine*, 42:293-301.

- Luque-Larena, J. J., López, P. y Gosálbez, J. (2003). Male dominance and female chemosensory preferences in the rock-dwelling snow vole. *Behaviour*, 140 (5):665-681.
- Marco, I., Cuenca, R., Pastor, J., Velarde, R. y Lavin, S. (2003). Hematology and serum chemistry values of the European Brown Hare. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(4):195-198.
- Metcheva, R., Beltcheva, M. y Chassovnikarova, T. (2008). The snow vole (*Chionomys nivalis*) as an appropriate environmental bioindicator in alpine ecosystems. *Science of the total environment*, 391:278-283.
- Mills, J. N., Childs, J. E., Ksiazak, T. G., Peters, C. J. y Velleca, W. M. (1995). Methods for trapping and sampling small mammals for virologic testing. U.S. Department of health and human services. 66 pp.
- Morton, D. B., Abbot, D., Barclay, R., Closer, B. S., Ewbank, R., Gask, D., Heath, M., Mattic, S., Poole, T., Seamer, J., Southee, J., Thompson, A., Trussel, B., West, C. y Jennings, M. (2003). Removal of blood from laboratory animals and birds. *Laboratory animals*, 27:1-22.
- Mosin, A. F. (1982). Some physionlogical and biochemical features of starvation and refeeding in small wild rodents (Microtinae). *Comparative biochemistry and physiology*, 74A:461-464.
- Nimitsuntiwong, W., Homswat, S., Boonprakob, U., Kaewmokul, S. y Schmidt, A. (2000). Hematological and plasma biochemical values in captive Eld's-Brow Andtlered Deer (*Cervus eldi thamin*) in Thailand. *Journal of veterinary medical science*, 62 (1):93-95.
- Nordoy, E. S. y Thoresen, S. I. (2002). Reference values for serum biochemical parameters in free-ranging harp seals. *Veterinary Clinical Pathology*, 31(3):98-105.
- Olfert, E. D., Cross, B. M. y McWilliam, A. A. (1998). Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación. Canadian Council on Animal Care. http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/SPANISH/toc_v1.htm

- Paul-Murphy, J., Work, T., Hunter, D., McFie, E. y Fjelline, D. (1994). Serologic survey and serum biochemical reference ranges of the free-ranging mountain lion (*Felis concolor*) in California. *Journal of Wildlife Diseases*, 30(2):205-215.
- Pérez, J. M., González Rodríguez, F. J., Granados, J. E., Pérez, M. C., Fandos, P., Soriguer, R. y Serrano, E. (2003). Hematologic and biochemical reference intervals for Spanish Ibex. *Journal of Wildlife Diseases*, 39 (1):209-215.
- Reed, A. H., Henry, R. J. y Mason, W. B. (1971). Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clinical chemistry*, 17(4):275-284.
- Rewkiewicz-Dziarska, A. (1975). Seasonal changes in leukocyte indexes in *Microtus arvalis* (Pallas, 1779). *Bulletin de l'académie polonaise des sciences. Série des sciences biologiques*, XXIII (7):475-480.
- Shultz, E. K., Willard, K. E., Rich, S. S., Connelly, D. P. y Critchfield, G. C. (1985). Improved reference-interval estimation. *Clinical chemistry*, 31(12):1974-1978.
- Siegel, S. y Castellan, N. J. (1988). *Nonparametric statistics for the behavioural sciences*. McGraw-Hill. New York. 399 pp.
- Solberg, H. E. (1987). Approved recommendation (1987) en the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 25:645-656.
- Soriguer, R., Fandos, P., Bernáldez, E. y Delibes, J. R. (1994). *El ciervo en Andalucía*. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca. 244 pp.
- StatSoft, I. (2001). *Statistica (data analysis software system)*, version 6. www.statsoft.com.
- Topashka-Ancheva, M., Metcheva, R. y Teodorava, S. (2003). A comparative analysis of the heavy metal loading of small mammals in different regions of Bulgaria II: chromosomal aberrations and blood pathology. *Ecotoxicology and environmental safety*, 54:188-193.
- Trumble, S. J. y Castellini, M. A. (2002). Blood chemistry, hematology, and morphology of wild harbor seal pups in Alaska. *Journal of Wildlife Management*, 66(4):1197-1207.
- UCM. (2000). *Guión de prácticas de patología general*. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 76 pp.

- van Herck, H., Baumans, V., Brandt, C. J., Boere, H. A., Hesp, A. P., van Lith, H. A., Schurink, M. y Beynen, A. C. (2001). Blood sampling from the retro-orbital plexus, the saphenous vein and the tail vein in rats: comparative effects on selected behavioural and blood variables *Laboratory Animals*, 2:131-139.
- van Herck, H., Baumans, V., Brandt, C. J., Hesp, A. P., Sturkenboom, J. H., van Lith, H. A., van Tintelen, G. y Beynen, A. C. (1998). Orbital sinus blood sampling in rats as performed by different animal technicians: the influence of technique and expertise. *Laboratory Animals*, 32:377-386.
- van Herck, H., de Boer, S. F., Hesp, A. P., van Lith, H. A., Baumans, V. y Beynen, A. C. (1997). Orbital bleeding in rats while under diethylether anaesthesia does not influence telemetrically determined heart rate, body temperature, locomotor and eating activity when compared with anaesthesia alone. *Laboratory Animals*, 31:271-278.
- Voigt, G. L. (2000). Introducción al laboratorio de hematología. Pp. 1-4. En: (eds.). *Conceptos y técnicas hematológicas para técnicos veterinarios*. Editorial Acribia. Zaragoza.164pp.
- Whiting, S. D., Guinea, M. L., Limpus, C. J. y Fomiatti, K. (2007). Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comparative Clinical Pathology*, 16:109-118.
- Zapata Builes, Z. y Falardo Rincón, H. D. (2007). Manual de química sanguínea veterinaria.http://www.temas-estudio.com/manual_de_quimica_sanguinea_veterinaria/.

**ESTRUCTURA Y CARACTERIZACIÓN
GENÉTICA DEL TOPILLO NIVAL
(*Chionomys nivalis*) EN ESPAÑA EN BASE A
MARCADORES MICROSATÉLITES**

ESTRUCTURA Y CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL TOPILLO NIVAL (*Chionomys nivalis*) EN ESPAÑA EN BASE A MARCADORES MICROSATÉLITES

1. INTRODUCCIÓN.....	308
2. METODOLOGÍA.....	314
2.1. Muestreo de ejemplares y extracción de ADN.....	314
2.2. Selección y optimización de microsatelites de ADN	315
2.3. Análisis genéticos.....	319
3. RESULTADOS	324
3.1. Variabilidad genética.....	324
3.1.1. Distribución de frecuencias alélicas y heterocigosidad.....	324
3.1.2. Equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento	325
3.2. Estructura genética de las poblaciones	328
3.2.1. Test de asignación: ¿cuántos clústers genéticos tenemos?.....	328
3.2.2. Distancias genéticas y relaciones entre poblaciones	331
4. DISCUSIÓN.....	333
4.1. Variabilidad y diferenciación genética.....	333
4.2. Número de poblaciones y relación genética entre las mismas	335
4.3. Revisión de las subespecies españolas de topillo nival	337
5. CONCLUSIONES.....	340
6. BIBLIOGRAFÍA.....	341

1. INTRODUCCIÓN

Durante el Pleistoceno (aprox. desde hace 1.8 M.a. hasta hace 10,000 años) se produjeron profundos cambios climáticos que modelaron los patrones de distribución geográfica, la historia demográfica y la diversidad genética de numerosas especies de plantas y animales paleárticas (Avice 2000; Hewitt 2000). Entre las especies afectadas por las fluctuaciones climáticas del Pleistoceno, el topillo nival o neverón (*Chionomys nivalis*) constituye un interesante caso de estudio.

Parece que el topillo nival se diferenció como especie al final de Pleistoceno inferior (aprox. hace 0.6 M.a), presumiblemente en el área del Bósforo (Nadachowski 1991). La adaptación específica del topillo nival a ambientes rocosos en medios abiertos explica que su frecuencia y expansión en los yacimientos fósiles del cuaternario aumenten durante los periodos más fríos y secos del Pleistoceno. Durante estos periodos, las bajas temperaturas y la aridez ambiental, provocaron un aclaramiento del paisaje, haciendo que los bosques se retrajesen frente a la dominancia de los ambientes abiertos y de estepa. En esos tiempos, el ecosistema típico de la tundra ártica cubría la mayor parte del norte y centro de Europa, permitiendo la expansión de la fauna adaptada al frío y a los medios estépico, como *C.nivalis*, *Microtus gregaris* y *Lepus timidus* (Terzea 1972; Graf 1982; Nadachowski 1991; Cuenca Bescós 2002). En este sentido, los registros paleontológicos del Pleistoceno superior atestiguan la amplia distribución del topillo nival por Europa central y occidental, que incluso extendía su rango a zonas de baja altitud durante las fases de expansión glacial, cuando el hielo cubría la mayoría de las montañas (Terzea 1972; Chaline 1977; Nadachowski 1991). Durante aquella época en la que el topillo nival presentó su mayor expansión geográfica, se caracterizó también por presentar un polimorfismo tan elevado que se podían encontrar en una misma población numerosos rasgos morfológicos que hoy en día son característicos de distintas áreas geográficas (Terzea 1972).

Posteriormente, con la retirada de los hielos al final de la glaciación Würm, los bosques recubrieron Europa, y la distribución del topillo nival se vio fragmentada,

quedando núcleos aislados en zonas no arboladas en las que se mantenían hábitats rocosos apropiados, o bien recolonizando las regiones montañosas de Europa, más allá del límite altitudinal de los árboles (Chaline 1977; Nadachowski 1991).

En la actualidad, los topillos nivales se distribuyen dentro de una estrecha franja de unos 5,500 km de largo por 2,500 km de ancho en el paleártico suroccidental. A lo largo de esta franja ocupan las montañas de Europa y Asia Menor, desde España hasta Irán (Monte Kopet Dag y Zagros), pasando por los Alpes, Apeninos, Alpes Dináricos, los Cárpatos, los Balcanes, el Cáucaso y las montañas de Turquía, Israel, Líbano y Siria (Corbet 1978; Krapp 1982) (Figura 6-1). También hay algunas poblaciones de neverones a baja altitud en el sur de Europa: España, Francia, Italia y la Península Balcánica (Nappi 2002).

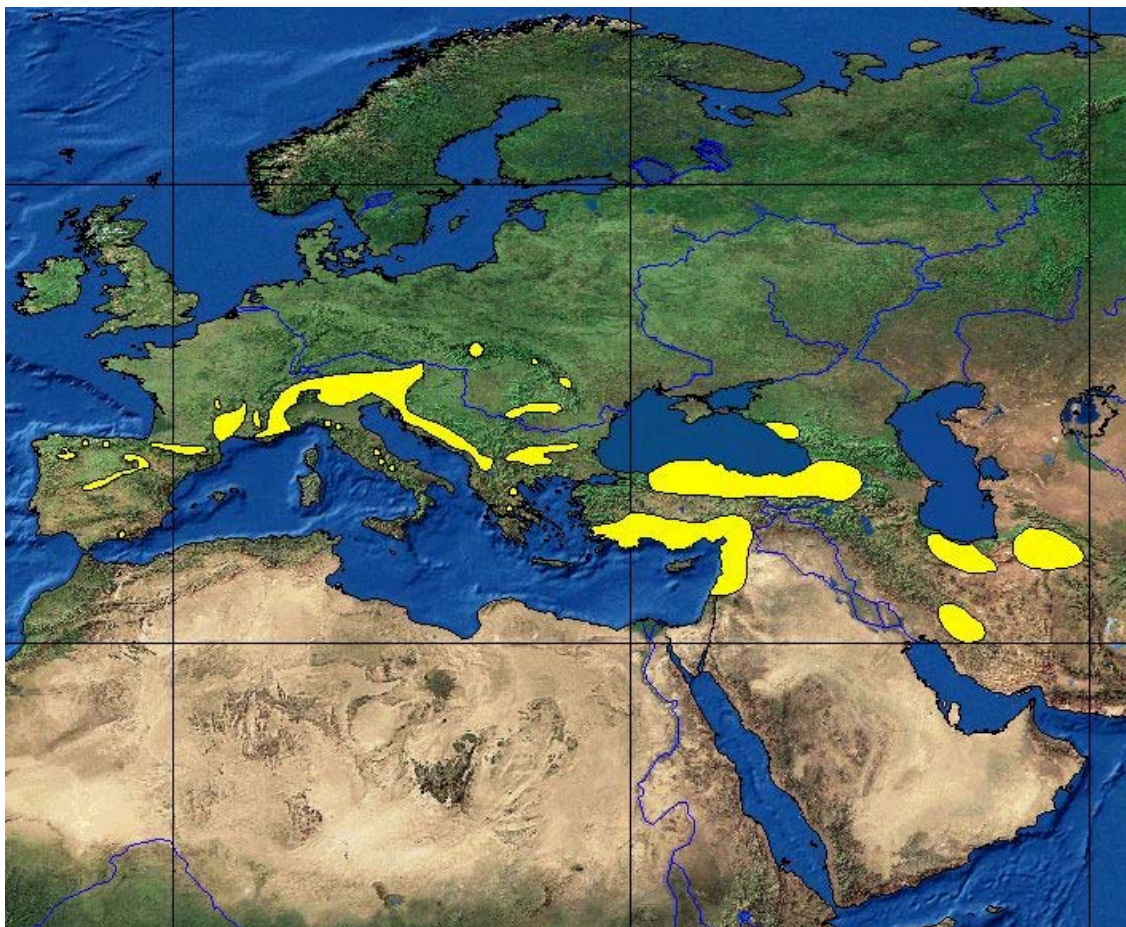


Figura 6-1.- Distribución mundial del topillo nival (*Chionomys nivalis*)

– tomada de la European Quaternary Mammalia Database-.

El alto grado de fragmentación del área de distribución del topillo nival ha conllevado que las poblaciones aisladas hayan evolucionado de forma independiente durante más de 10,000 años y en consecuencia que hayan divergido genéticamente. En la actualidad se reconoce un número considerable de subespecies. Krap (1982) distingue 13 subespecies, mientras que Ellerman & Morrison-Scott (1966) listan 16. Nadachowski (1991) reconoce 18 subespecies que agrupa en cinco morfotipos en base a la morfología dental del M³ (tercer molar superior) y M₁ (primer molar inferior). Corbet (1978) y Wilson (2005) cifran 23 variedades y Kratochvil (1981) lo eleva a 25.

Como se acaba de demostrar la taxonomía del topillo nival y la distinción entre subespecies es confusa y exclusivamente está basada en caracteres un tanto subjetivos o poco precisos, como el color del pelaje, medidas craneales y corporales y/o morfología molar. Además, ninguna de las clasificaciones que se han elaborado hasta ahora incluye el rango de distribución completo del topillo nival (Kratochvil 1981; Madureira 1983; Krystufek 1990; Nadachowski y Baryshnikov 1990; Nadachowski 1991; Nadachowski 1992; Krystufek 1999). También se han realizado estudios más objetivos basados en técnicas moleculares para registrar la variación de alozimas en poblaciones de *C.nivalis* y testar la hipótesis de Graf sobre la recolonización de los Alpes tras las glaciaciones (Graf 1982; Filippucci *et al.* 1991). Sin embargo, estos trabajos tienen el inconveniente de que están referidos a sólo una pequeña área geográfica de todo el rango de distribución del topillo nival.

España constituye el límite suroccidental de la distribución mundial de *C.nivalis*, y dentro de la región encontramos el mismo escenario que a nivel global en cuanto al aislamiento de los núcleos poblacional y la incertidumbre acerca de su estatus taxonómico. El topillo nival se distribuye en los principales macizos montañosos de España: Macizo Galaico y Cordillera Cantábrica, Pirineos, norte del Sistema Ibérico, Sistema Central y Sierra Nevada (Luque-Larena y Gosálbez 2002). Según se recoge en la bibliografía (Blanco y González 1992; Castells y Mayo 1993; Luque-Larena y Gosálbez 2002), en España hay cuatro subespecies de neverón, aunque no todas están reconocidas:

- *Chionomys nivalis nivalis* (Martins, 1842)
- *Chionomys nivalis aquitanicus* (Miller, 1908)
- *Chionomys nivalis abulensis* (Morales Agacino, 1936)
- *Chionomys nivalis nevadensis*

C.n.nivalis es la subespecie presuntamente descrita para la C.Cantábrica. No obstante, este nombre científico coincide con el que recibe la subespecie nominal, originalmente descrita en los Alpes Suizos y caracterizada por la presencia de un ángulo muy estrecho y agudo en el lóbulo anterior del M_1 (Martins 1842). En ocasiones la población de la C.Cantábrica ha sido referida como *C.n.aquitanicus* (Niethammer 1964) o *C.n.abulensis* (Nadachowski 1991), con lo que se hace evidente que su posición taxonómica no está clara.

C.n.aquitanicus habita en los Pirineos y también se caracteriza por la forma del M_1 que, en esta ocasión, presenta un ángulo abierto y redondeado, que a veces está ausente (Miller 1908).

C.n.abulensis es la subespecie que se localiza en el Sistema Central y Sierra de Gredos, y se caracteriza por la morfología del M^3 , por un mayor tamaño corporal y por presentar un color de pelo más claro que las variedades de Pirineos y C.Cantábrica (Morales Agacino 1936; Niethammer 1964).

C.n.nevadensis habita en Sierra Nevada, donde se descubrió hace menos de 35 años (Vericad y Meylan 1973). El único trabajo que ha intentado sintetizar los rasgos fenotípicos propios de esta población llegó a la conclusión de que los criterios morfológicos utilizados en la actualidad con fines taxonómicos no son apropiados, ya que todas las variaciones en el color del pelaje, así como todos los pasos transicionales en la morfología del M_1 desde *C.n.nivalis* a *C.n.aquitanicus*, fueron encontrados en una muestra de tan solo siete animales procedentes de Sierra Nevada (Ruiz Bustos y Padial 1980). Esta población por tanto, no ha sido aún caracterizada morfológicamente ni es reconocida todavía como subespecie independiente. Sin embargo, su localización en Sierra Nevada, la población española más aislada geográficamente, y a su vez la más limítrofe por el extremo suroccidental de toda su área mundial de distribución, hacen que esta población

haya sido considerada como una “posible” subespecie nueva. Por otro lado, la posición geográfica de S.Nevada y su compleja orografía, hicieron que este macizo montañoso desempeñase un papel muy importante como refugio post-glaciar y como centro de endemismo de numerosas especies de plantas y animales (González-Tejero *et al.* 1992; Gómez y Lunt 2006). Esta elevada tasa de especiación y de variabilidad intraespecífica registrada en S.Nevada, hacen que haya sido muy probable que una nueva subespecie de *C.nivalis* se haya diferenciado en estas montañas.

Desde la perspectiva que acabamos de exponer, resulta obvio que la sistemática del topillo nival necesita ser revisada utilizando criterios homogéneos y objetivos que se apliquen sobre todas las poblaciones de su rango de distribución. Como inicio de esta ambiciosa empresa, en este capítulo nos centramos en las poblaciones de topillo nival de España, utilizando marcadores genéticos para su caracterización. En un estudio genético preliminar en el que se utilizó ADN mitocondrial (mtDNA) para analizar una pequeña muestra de neverones se encontró una divergencia nucleotídica muy baja entre las poblaciones de Pirineos, Sistema Central y Sierra Nevada (Pérez-Suárez *et al.* 1998). Aunque hubiesen sido necesarias más muestras para completar el análisis filogeográfico, los bajos niveles de variación de los haplotipos mitocondriales registrados en ese estudio (0.9 – 3%) sugerían que otros marcadores genéticos, de más rápida evolución, podrían ser más útiles para detectar la posible variación genética surgida entre poblaciones. Por esa razón, en el presente estudio hemos utilizado microsatélites –secuencias cortas de ADN que se repiten en tándem un número variable de veces- como marcadores genéticos, bajo la asunción de que su alta tasa de mutación y elevado número de alelos (Goldstein *et al.* 1995) pueden proporcionar estimas más sensibles de divergencia genética que el ADN mitocondrial. Se ha comprobado que el uso de microsatélites permite definir con precisión los límites geográficos entre poblaciones, así como inferir detalladamente procesos evolutivos, la historia demográfica o la estructura genética de muchas especies – caballos, peces, gorriones, zorros, perdices, bóvidos - (Goldstein *et al.* 1999; Cañon *et al.* 2000; Ritz *et al.* 2000; Chan y Arcese 2002; Randi *et al.* 2003; Carreras-Carbonell *et al.* 2006).

Nuestros objetivos son: (1) utilizar marcadores genéticos para evaluar objetiva y cuantitativamente la distinción entre las poblaciones de topillo nival de España, con el fin

de dar soporte al rango taxonómico de subespecie que se les ha asignado en base a rasgos externos; (2) caracterizar, si así pusiesen de manifiesto los resultados del primer objetivo, la distinción genética de la población de neverones de Sierra Nevada, para utilizarlo como diagnóstico para su reconocimiento a nivel de subespecie.

En su origen, el término *subespecie* se definió como “un conjunto de poblaciones localizadas en un área geográfica definida que difiere taxonómicamente de otros agregados poblacionales de la especie” (Mayr 1963). El término se modificó posteriormente para contemplar la importancia de los aspectos de base genética, de modo que la distinción entre subespecies debería estar basada en la presencia de múltiples rasgos genéticos independientes entre sí y comunes para cada subespecie en cuestión (Avice y Ball 1990). Con el fin de proporcionar una definición completa e integrada del concepto de *subespecie*, O’Brien y Mayr (1991) sintetizaron las siguientes ideas: “Los miembros de una subespecie comparten un rango geográfico o hábitat específico, así como una serie de rasgos fenotípicos con base filogenética, y una historia natural única en relación a otras subespecies de la misma especie. Debido a que se trata de subdivisiones dentro del nivel de especie, las diferentes subespecies son compatibles desde el punto de vista reproductivo. Generalmente se tratará de subespecies alopátricas que presentan una clara distinción filogenética, debido a la acumulación temporal de diferencias genéticas en ausencia de flujo génico”.

Lo expuesto hasta ahora nos hace ser conscientes de la complejidad del concepto de subespecie, y de la inherente subjetividad del mismo (O’Brien y Mayr 1991; Cronin 2007). Sin embargo, no es el objetivo de este trabajo discutir si el rango taxonómico de subespecie es adecuado para describir la variabilidad observada entre las poblaciones de topillo nival (aspecto discutido en (Krystufek 1990)). En este estudio nos limitamos a asumir el escenario actual de subespecies descrito para *C.nivalis* y, dentro de este marco, nuestro objetivo es analizar la variación de las poblaciones españolas de topillo nival desde el punto de vista genético.

2. METODOLOGÍA

2.1. MUESTREO DE EJEMPLARES Y EXTRACCIÓN DE ADN

Entre los años 2004 y 2006 utilizamos trampas de vivo de tipo Sherman para la captura de topillos nivales en seis localidades de España: Peña Trevinca (Macizo Galaico), San Glorio (Cordillera Cantábrica), Pirineos, Sierra Cebollera (Sistema Ibérico), Peñalara (Sistema Central) y Sierra Nevada. Los trampeos se realizaron siempre en hábitats óptimos para los neverones, i.e. canchales y áreas rocosas en medios abiertos, fundamentalmente de montaña. El número de muestras obtenidas, así como el número y distribución de colonias muestreadas difirió entre localidades. Estas diferencias han sido consideradas en la realización de los análisis y en la discusión de los resultados. En la Cordillera Cantábrica y Peñalara (Sistema Central) se muestreó sólo una colonia por localidad. En el Macizo Galaico y Sierra Cebollera (Sistema Ibérico) se muestrearon dos colonias por localidad, situadas a unos 25 Km de distancia entre sí, en ambos casos. En Pirineos, las muestras proceden de cinco colonias distribuidas a lo largo de 100 Km. Para Sierra Nevada las muestras de topillo nival proceden de más de 15 colonias repartidas por toda la sierra. La población de neverones de Sierra Nevada está especialmente bien representada en las muestras recogidas debido al mayor esfuerzo invertido para prospectar y muestrear todo el macizo montañoso nevadense, como parte de los objetivos del primer capítulo de la Tesis. La situación geográfica de las seis zonas de estudio y el número de muestras procedentes de cada una de ellas se muestra en la Figura 6-2.

Las muestras de tejido para los análisis genéticos se obtuvieron mediante amputación de la falange distal, pues además de proveer una cantidad de tejido buena para la obtención de ADN en abundancia y de calidad; nos servía simultáneamente como método de marcaje para reconocer los individuos ya capturados. Aunque como cualquier otro método invasivo pueda resultar un tanto cruento, este tipo de mutilaciones no provocan un descenso de la capacidad de supervivencia del animal ni hacen disminuir su capturabilidad (Korn 1987). Además, hemos observado en el campo numerosos neverones con dedos mutilados de forma natural, presumiblemente como resultado de peleas con

otros animales. En una ocasión, encontramos un individuo con daños en hasta cuatro dedos, contando las dos manos. Las muestras de tejido así obtenidas se conservaron en una solución de etanol al 70% y se almacenaron a temperatura ambiente hasta que fueron procesadas en el laboratorio. Utilizamos el kit de extracción Dneasy (Qiagen Inc, Valencia, CA, USA) para extraer el ADN genómico total.

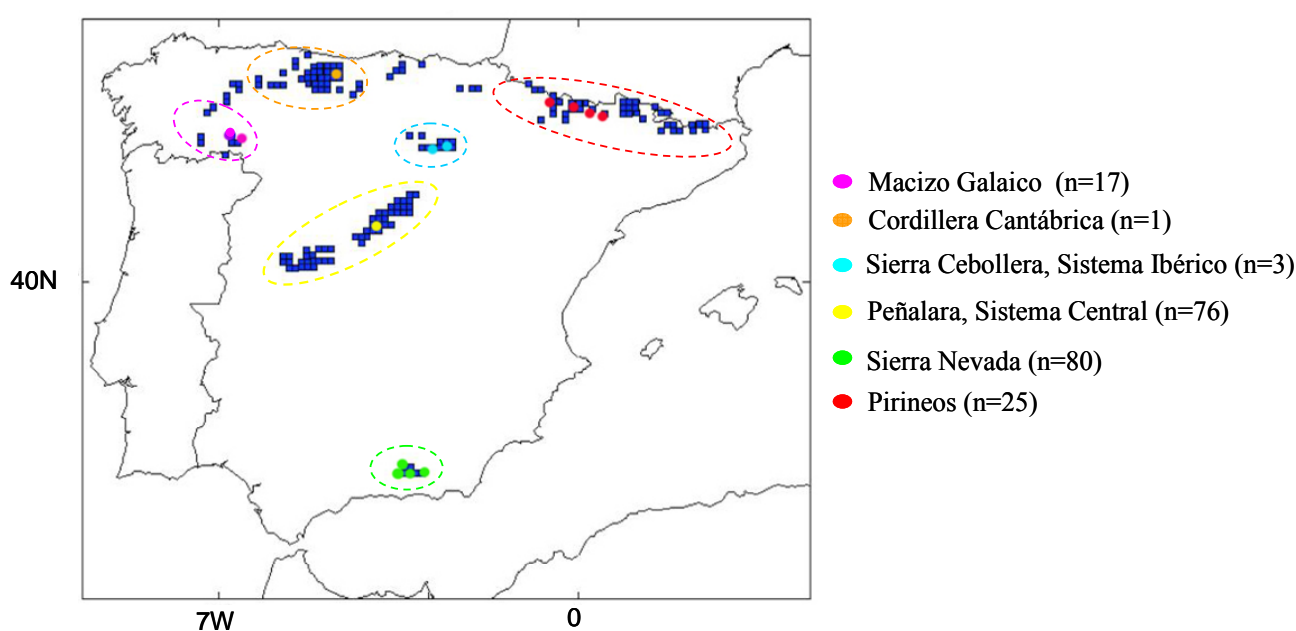


Figura 6-2.- Distribución del topillo nival (*Chionomys nivalis*) en España –cuadrículas azules- (Tomado de Luque-Larena y Gosálbez (2002)). Las zonas de muestreo de este estudio están indicadas con puntos de color, y las líneas discontinuas delimitan la extensión de cada macizo montañoso. El número de muestras recogidas por localidad se indica entre paréntesis en la leyenda de la figura.

2.2. SELECCIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE MICROSATELITES DE ADN

Los loci de ADN microsatélite son repeticiones en tándem de 2 a 6 nucleótidos que aparecen en una frecuencia muy elevada en el genoma nuclear de la mayoría de los taxa. Debido a su alta tasa de mutación tienen un alto número de alelos, que difieren entre sí por su tamaño o número de tándems de nucleótidos repetidos. En contraposición, las regiones flanqueantes de los microsatélites están muy conservadas (i.e., son muy estables, mutan muy poco), luego se pueden diseñar pequeñas secuencias de ADN, denominadas primers o

cebadores, para que se unan específicamente a éstas regiones flanqueantes y actúen como guías de la polimerasa en el proceso de amplificación del microsatélite deseado. En resumen, los microsatélites son muy polimórficos, están codificados por un único locus, son marcadores genéticos codominantes y pueden ser registrados de forma inequívoca y consistente (Queller *et al.* 1993; Selkoe y Toonen 2006). Estas características hacen que los microsatélites sean una herramienta muy útil para el análisis de la estructura genética a nivel poblacional y por estas razones en este estudio utilizamos microsatélites como marcadores moleculares.

Desafortunadamente la bibliografía no contempla aún información sobre primers específicos del género *Chionomys*. Sin embargo, y gracias a la alta estabilidad de las regiones flanqueantes, muchos estudios han demostrado que primers diseñados para una especie en particular también son capaces de amplificar microsatélites en otro taxón emparentado. Esta posibilidad de utilizar primers entre especies cercanas filogenéticamente se ha demostrado en muchos grupos de mamíferos, incluyendo roedores, artiodáctilos, cánidos, mustélidos, cetáceos, pinnípedos y primates (referencias completas en Moncrief *et al.* (1997)). Entre los roedores, por ejemplo, varios primers desarrollados para *Clethrionomys rufocanus*, *Arvicola terrestris* y varios *Mus*, también amplifican satisfactoriamente en algunas especies de *Microtus* (Moncrief *et al.* 1997; Stewart *et al.* 1998; Ishibashi *et al.* 1999). En general, probar y optimizar primers ya desarrollados para otras especies emparentadas es más económico en términos de dinero y tiempo que aislar nuevos primers específicos para la especie de interés (Selkoe y Toonen 2006); no obstante, el proceso de optimización en sí mismo puede llegar a ser muy tedioso. En este estudio sobre *C.nivalis* hemos utilizado microsatélites desarrollados para otras especies. Hemos llegado a probar hasta 47 pares de primers publicados en la bibliografía para distintas especies de roedores (microtininos, arvicólidos y esciúridos): *Microtus oeconomus* (Van De Zande *et al.* 2000), *Clethrionomys glareolus* (Gockel *et al.* 1997; Barker *et al.* 2005), *Microtus montebelli* (Ishibashi *et al.* 1999), *Arvicola terrestris* (Stewart *et al.* 1998) y *Tamiasciurus hudsonicus* (Gunn *et al.* 2005). De todos ellos, sólo siete primers resultaron ser polimórficos y arrojaron resultados consistentes y fiables. El nombre de cada uno de los primers que finalmente utilizamos para este estudio, la especie de origen para el cual fue diseñado y la referencia bibliográfica del mismo se recogen en la Tabla 6-1.

Locus	Especie de origen	Referencia	Motivo repetido	Tª ann.en C.n.
Moe2	<i>Microtus oeconomus</i>	Van de Zande et al., 2000	dinucleótido	66
Mm3	<i>Microtus montebelli</i>	Ishibashi et al., 1999	dinucleótido	66
Mm6	<i>Microtus montebelli</i>	Ishibashi et al., 1999	dinucleótido	66
Mm4	<i>Microtus montebelli</i>	Ishibashi et al., 1999	dinucleótido	63
Mm8	<i>Microtus montebelli</i>	Ishibashi et al., 1999	dinucleótido	59
Av12	<i>Arvicola terrestris</i>	Stewart et al., 1998	tetranucleótido	59
Av14	<i>Arvicola terrestris</i>	Stewart et al., 1998	tetranucleótido	59

Tabla 6-1.- Especie de origen, referencia bibliográfica, longitud del motivo repetido y temperatura de anillamiento (°C) –optimizada para *C.nivalis*- para los siete microsátélites que amplificaron satisfactoriamente en *Chionomys nivalis*.

Las secuencias originales publicadas de todos los primers utilizados fueron modificadas mediante la adición de una cola M13 o de una secuencia *pigtail* en el extremo 5'. Los primers directos (forward primers) se pidieron con una de las siguientes colas: NED (taaaacgacggccagtgc), PET (ggaaacagctatgacca), VIC (gcggataacaatttcacacagg) o FAM (tttcccagtcacgacgttg), que permiten la unión de marcadores fluorescentes específicos (amarillo, rojo, verde y azul, respectivamente) al producto de amplificación de la PCR (polymerase chain reaction – reacción en cadena de la polimerasa). De este modo se pueden preparar reacciones múltiples de varios primers simultáneamente en una única PCR, y posteriormente identificar los productos de amplificación de cada primer según el color. Asimismo, a todos los primers indirectos (reverse primers) se les añadió la secuencia *pigtail* gtttttt en el extremo 5', con el fin de reducir ruido en los productos de amplificación debido a adenilación diferencial durante la PCR.

Las condiciones de PCR de cada primer fueron optimizadas para su uso en *C.nivalis*. Mm3, Mm6 y Moe2 amplificaron juntos en una reacción múltiple. La reacción para la PCR que se preparó contó con una concentración final de 0.05 µM de cada primer directo –con cola-, 0.5 µM de cada primer indirecto, y 0.1 µM de M13 (mezcla de marcadores fluorescentes) en un volumen de reacción de 16 µl. La reacción también incluyó 8 µl de la enzima Multiplex Taq (QIAGEN) y 40 ng de ADN. Los parámetros establecidos para los ciclos de la PCR fueron los siguientes: 15 minutos iniciales a 95°C, seguidos de 41 ciclos constituidos por series de 30 segundos a 95°C, seguidos de 90 segundos a la temperatura de anillamiento (66°C) y 30 segundos más a 72°C. Durante esta

fase se unen los primers específicamente al ADN y se amplifica la secuencia microsatélite. Seguidamente se aplicó un programa *touch down* de varios ciclos en los que se va disminuyendo la temperatura de anillamiento para que los marcadores fluorescentes de la mezcla M13 se unan específicamente a las colas de los microsatélites amplificados, marcándolos con color. Este ciclo de reacción consistió en siete ciclos más en los que la temperatura de anillamiento fue 65°C (en vez de 66°C), seguidos de otros siete a una temperatura de 61°C, más otros siete a 58°C y por último 20 ciclos más a 55°C. Para concluir se aplicó una extensión final de 30 minutos a 72°C para asegurar una adenilación (reacción frecuente de la polimerasa que añade un nucleótido de adenina al producto de amplificación) uniforme de todos los productos y evitar así heterogeneidad en las longitudes de las múltiples copias de cada alelo.

Los primers Av12/Av14 y Mm4/Mm8 no reaccionaron satisfactoriamente en reacciones múltiples, por lo que tuvimos que realizar dos reacciones de PCR para cada par. En la primera PCR se amplifica la secuencia específica (el microsatélite), y en la segunda PCR se añaden los marcadores fluorescentes que se unen a la secuencia amplificada. Las reacciones individuales (para cada primer por separado) de PCR contuvieron 40 ng de ADN, 1x Titanium Taq PCR Buffer (CLONETECH, Palo Alto, CA), 0.25 mM NTDs (nucleótidos), 0.2 µl de enzima ADN polimerasa Titanium Taq y 0.2 µM de primer directo e indirecto en un volumen de reacción final de 15 µl. El ciclo de la PCR fue de 1 minuto inicial a 95°C, seguido de 30 ciclos constituidos por series de 30 segundos a 95°C, más 30 segundos a la temperatura de anillamiento optimizada para cada primer, más 30 segundos finales a 72°C. Asimismo se añadió una extensión a 72°C durante 30 minutos para asegurar la adición del nucleótido de adenina a todos los productos. La temperatura de anillamiento para Av12, Av14 y Mm8 fue de 59°C y para Mm4 de 63°C (ver Tabla 6-1). La adición del marcador fluorescente a los productos de la PCR sí pudo realizarse mediante reacciones múltiples para cada par a partir del producto amplificado en las reacciones individuales. Para ello se mezclaron los productos de la PCR de Av12 y Av14 a partes iguales; y los de Mm8 y Mm4 en una proporción de 1:4 partes. Se tomó 1 µl de cada mezcla y se prepararon dos reacciones de PCR múltiples, cada una con 8.0 µl de Qiagen Multiplex Taq, 0.3 µM de cada primer directo marcado con cola M13 y 0.2 µl de cada primer indirecto usados para cada reacción. El volumen final de cada reacción se ajustó a 16 µl

con agua desionizada. Los parámetros para los ciclos de PCR consistieron en: 15 minutos iniciales a 95°C, seguidos de 25 ciclos de 30 segundos a 95°C, 90 segundos a 55°C y 30 segundos a 72°C, y para finalizar una extensión de calor a 72°C durante 30 minutos.

Las reacciones de PCR se desarrollaron en máquinas para PCR de 96 pocillos de los modelos Perkin Elmer 9700 (Applied Biosystems) y Mastercycle Gradient (Eppendorf), y en un bloque termoelectrónico MBS. Los productos finales de las reacciones de amplificación de Moe2/Mm3/Mm6, Av12/Av14 y Mm4/Mm8 fueron diluidos a 1:400, 1:50 y 1:200, respectivamente en agua desionizada. Se tomó 1 µl de esta dilución y se añadió a 19 µl de ROX/Formamide *ladder*, para visualizar el tamaño de los alelos. El análisis de los alelos se llevó a cabo en un analizador genético, modelo Perkin Elmer Applied Biosystems 3730, del Centro de Genómica de la Universidad de Nevada, Reno (Nevada Genomics Center, University of Nevada, Reno, USA. <http://www.ag.unr.edu/genomics/>). El análisis y examen de los alelos, el establecimiento de los rangos de longitud (bins) y la asignación de los alelos a estos rangos se realizó mediante el software GeneMapper (versión 3.7) de ABI.

2.3. ANÁLISIS GENÉTICOS

A continuación se exponen los distintos aspectos evaluados y análisis ejecutados para documentar el grado de diversidad genética a nivel intra- e interpoblacional de los topillos procedentes de las seis localidades de estudio, en base a su composición alélica. Como ya se ha mencionado anteriormente, para algunas de estas localidades contamos con un tamaño muestral extremadamente bajo, que por tanto no constituye una muestra representativa de la población en términos estadísticos, pero que sigue siendo útil en términos informativos pues capta la variabilidad genética que aloja la población.

Hemos usado el programa FSTAT (versión 2.9.3.2, Goudet 2001) para calcular los estadísticos F de Wright (Wright 1969) y evaluar la estructura genética entre poblaciones (F_{ST}), medir la diversidad génica (H_E) y la riqueza de alelos (R_S , R_T) y cuantificar el grado de endogamia (F_{IS}) en cada población.

La existencia de desequilibrio de ligamiento (linkage disequilibrium) y de equilibrio de Hardy-Weinberg también se comprobó mediante el FSTAT (Goudet 2001). El equilibrio de Hardy-Weinberg se comprobó en base a los valores de F_{IS} para cada localidad muestreada y para cada locus. El F_{IS} es una medida del grado de endogamia entre los individuos en relación a la subpoblación a la que pertenecen, y se usa para evaluar si las muestras son panmícticas, como asumen los análisis genéticos basados en el estudio de poblaciones. Los valores de F_{IS} oscilan entre -1 (outbred = población exógama) y +1 (inbred = población endogámica), siendo cero el valor que corresponde a una población en equilibrio de HW. El F_{IS} y la F_{ST} son conocidos como estadísticos F de Wright (Wright 1969). Estadísticamente están relacionados con el ANOVA, ya que se corresponden con la variación genética observada *dentro de* (F_{IS}) y *entre* (F_{ST}) subpoblaciones. Ambos estadísticos se estiman a partir de los valores de heterocigosidad observados, los cuales a su vez, se derivan de las frecuencias alélicas.

La ***diversidad genética*** de cada locus y de cada localidad de muestreo se evaluó mediante el número de alelos por locus (A), la riqueza alélica de cada locus (R_s , que se corresponde con el número de alelos corregido por el tamaño muestral) (El Mousadik y Petit 1996), los valores de heterocigosidad esperados y observados (H_E , H_O), y el coeficiente de endogamia (F_{IS}).

H_E es la heterocigosidad esperada o proporción de heterocigotos en una población en equilibrio de Hardy-Weinberg. Por tanto, para cada locus, H_E se corresponde con la frecuencia esperada de heterocigotos, que es $2pq$. H_E también es una medida de la variación genética de una población, conocida como *diversidad génica* (Nei's unbiased gene diversity – (Nei 1987)).

H_O es la heterocigosidad observada o proporción observada de heterocigotos. Se calcula como el número de heterocigotos para un locus dividido entre el número de individuos registrado.

Con el fin de evaluar el posible impacto de los cambios en las tendencias demográficas sobre la diversidad genética utilizamos el programa BOTTLENECK v.1.2.02.

(Cornuet y Luikart 1996). Este programa identifica poblaciones que han sufrido recientemente una reducción severa del tamaño poblacional, basándose en los valores de heterocigosidad. Cuando una población sufre una reducción dramática en el número de individuos, también experimenta una reducción en el número de alelos y en la diversidad génica (H_E). Pero el número de alelos cae más rápido que el número de genes. Por tanto la diversidad génica observada (H_E) es mayor que la diversidad génica esperada en una población en equilibrio HW (H_{Eeq}), porque H_{Eeq} se calcula a partir del número de alelos observado. Según este razonamiento, un exceso de heterocigosidad ($H_{Eobs} > H_{Eeq}$) es indicativo de que la población ha sufrido recientemente un cuello de botella.

El programa BOTTLENECK implementa los tres tipos de test existentes para detectar cuellos de botella recientes a partir de las frecuencias de los alelos de los microsatélites: el 'test de diferencias estandarizadas o standardized differences test', el 'test de signos o sign test' (Cornuet y Luikart 1996) y el 'test de rangos de Wilcoxon o Wilcoxon signed-ranks test' (Luikart *et al.* 1998). Nosotros elegimos este último test pues puede usarse con fiabilidad con tan solo cuatro loci polimórficos y cualquier tamaño muestral (aunque al menos se aconseja utilizar entre 15-40 individuos y entre 10-15 loci polimórficos para obtener buen soporte estadístico (Cornuet y Luikart 1996; Piry *et al.* 1999). El test de rangos de Wilcoxon es también el más poderoso, probablemente porque tiene en cuenta la magnitud del exceso de heterocigosidad y no sólo el número de loci que se desvían del equilibrio de mutación-deriva (Luikart y Cornuet 1998). Según estudiaron Di Rienzo *et al.* (1994), la mayoría de los microsatélites se ajustan al modelo de evolución de dos fases o TPM (two phase model), que es una combinación del modelo de mutación por pasos (SMM o strict single step mutations), según el cual las mutaciones en los alelos se producen por adición o delección de un nucleótido cada vez, y el modelo de mutación a saltos (MMM o multistep mutation model), por el cual las adiciones o delecciones implican muchos nucleótidos simultáneamente. Por esta razón, seleccionamos el modelo de dos fases en el programa, y según recomiendan Cornuet y Luikart (1996) y Piry *et al.* (1999) específicamente para el uso de alelos de microsatélites, fijamos que en el 95% de los casos las mutaciones se producen según el modelo por pasos (SMM), y que sólo en un 5% se producen a saltos (MMM), siendo posible una variación del tamaño del alelo mutado de hasta el 12.5% del tamaño original.

La *estructura genética* entre poblaciones fue evaluada mediante dos aproximaciones. Inicialmente seguimos un método basado en la composición alélica de los individuos, que no requiere la definición *a priori* de límites poblacionales. Para ello utilizamos el programa STRUCTURE v.2.0 (Pritchard *et al.* 2000), que utiliza un método de agrupación bayesiano para identificar poblaciones y asignar individuos a estas poblaciones en base a sus genotipos, al mismo tiempo que estima las frecuencias alélicas de cada población. Basándose en esta aproximación STRUCTURE determina el número más probable de clústers o agrupaciones genéticas (k) entre los individuos genotipados sin requerir información geográfica ni ningún otro tipo de criterios que delimiten subjetivamente las poblaciones. Partimos, pues, de un modelo en el que desconocemos el número de poblaciones o clústers genéticos (k). A partir de aquí, STRUCTURE aplica un algoritmo de remuestreo y simulación basado en el método de Monte Carlo y las cadenas de Markov (MCMC) para segregar los genotipos de los individuos en un número variable de grupos con el fin de maximizar el ajuste de los datos observados a los teóricos esperados atendiendo al equilibrio de Hardy-Weinberg y al desequilibrio de ligamiento. El resultado es que cada uno de estos clústers se caracteriza por un conjunto de frecuencias alélicas para cada locus, frente a las se compara el genotipo de cada individuo, quien finalmente es asignado a su clúster de origen más probable. De esta forma STRUCTURE calcula la probabilidad para un número variable de clústers a partir de la información genética de los individuos. Nosotros ejecutamos STRUCTURE para evaluar la probabilidad para 1-8 clústers genéticos potenciales (k), repitiendo el proceso tres veces para cada k – para asegurar la convergencia entre los parámetros estimados-. Para cada una de estas tres repeticiones generamos 500,000 simulaciones de MCMC. Asumimos un modelo de ancestría con “admixture”, que permite la existencia de flujo génico entre poblaciones. Usamos el logaritmo natural de la probabilidad de los datos [$\ln(P|D)$] para determinar el número de clústers que se ajusta mejor a los datos (Pritchard y Wen 2004). El programa STRUCTURE puede detectar una señal muy fuerte de estructura poblacional y asignar individuos adecuadamente a poblaciones con tan solo siete loci (Pritchard *et al.* 2000).

Una vez que los límites entre poblaciones fueron establecidos de esta manera, también evaluamos la diferencias genéticas entre las distintas poblaciones siguiendo una aproximación poblacional más tradicional. Para ello usamos los valores de F_{ST} y

analizamos la existencia de posibles cuellos de botella. La F_{ST} (Weir y Cockerham 1984) o índice de fijación refleja el grado de diferenciación genética entre poblaciones, contrastando la variación alélica *entre* poblaciones con la variación alélica *dentro de* poblaciones. Por tanto, la F_{ST} puede usarse como medida de la distancia genética entre pares de poblaciones.

Para visualizar la estructura genética de las poblaciones utilizamos un análisis de componentes principales (PCA) implementado en el programa GENETIX v.4.05.2 (http://www.univmontp2.fr/_genetix/genetix.htm). Asimismo, generamos un dendrograma usando el programa POPULATIONS v.1.2.26 desarrollado por O'Langella (Centre National de la Recherche Scientifique, Laboratoire Populations, Génétique et Evolution). La configuración del árbol filogenético se basó en el método del vecino más próximo (neighbour-joining (NJ)) por ser más eficiente que otros métodos de distancias para crear dendrogramas basados en datos de microsatélites (Saitou y Imanishi 1989; Rzhetsky y Nei 1992). Como medida de distancia genética se escogió la distancia *chord* (chord distance) de Cavalli-Sforza y Edwards (Cavalli-Sforza y Edwards 1967), estimada a partir de los alelos compartidos, porque se ha comprobado que las topologías de árboles filogenéticos que genera son más adecuadas que las producidas por otras medidas de distancia (Takezaki y Nei 1996). La fiabilidad de la topología del árbol está basada en 1,000 simulaciones bootstrap con reemplazamiento (Felsenstein 1985). Este mismo conjunto de parámetros ha sido aplicado satisfactoriamente en otros trabajos recientes para la construcción de dendrogramas basados en datos de microsatélites (Ritz *et al.* 2000; Cegelski *et al.* 2006). El dendrograma se visualizó con el programa TREEVIEW 1.6.6 desarrollado por Roderic Page (Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow).

3. RESULTADOS

3.1. VARIABILIDAD GENÉTICA

3.1.1. Distribución de frecuencias alélicas y heterocigosidad

Se detectaron un total de 90 alelos repartidos entre los siete loci analizados de los 202 topillos nivales muestreados. Estas cifras revelan un elevado polimorfismo de los loci utilizados, con un número medio de 12.9 ± 4.2 alelos por locus y un rango entre 8-18. Esta alta diversidad alélica se observó para todos los loci en todas las poblaciones con la excepción de los loci Mm3 y Mm6 que resultaron monomórficos –fijados para un alelo- en las poblaciones de S.Nevada y S.Cebollera, respectivamente. Los valores más altos de heterocigosidad esperada (H_E), así como el mayor número de alelos (A) y alelos privados (Pr A) –aquellos exclusivos de una población- fueron observados en las poblaciones de Pirineos y M.Galaico. La riqueza alélica media (R_S) también fue superior en estas dos poblaciones (Tabla 6-2). Las poblaciones de C.Cantábrica y S.Cebollera no fueron consideradas en el cálculo de la riqueza alélica. Este parámetro es una medida del número de alelos ajustado por el tamaño muestral y, por tanto, está basado en el tamaño muestral más bajo entre las poblaciones comparadas. El menor tamaño muestral lo presenta C.Cantábrica con tan solo un individuo. Si hubiésemos incluido todas las poblaciones en el cálculo de la riqueza alélica, estos valores no hubiesen diferido del número de alelos en cada loci para cada población.

Las frecuencias alélicas de los microsatélites analizados ponen de manifiesto que las poblaciones de neverones procedentes de las seis localidades de estudio presentan claras diferencias genéticas entre sí (Figura 6-3).

3.1.2. Equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento

Ninguno de los 84 valores de F_{IS} -coeficiente de endogamia- (tests para cada locus y cada población) se desvió significativamente de cero en ninguna dirección (exceso/defecto), sugiriendo que nuestras muestras están en equilibrio de Hardy-Weinberg (FSTAT: valor de P del 5 % ajustado = 0.00119, basado en 840 permutaciones).

Tampoco se observaron valores significativos en los test para comprobar el equilibrio de ligamiento, lo cual sugiere que estos loci no están ligados en los mecanismos de herencia y que, por tanto, proporcionan información independiente (FSTAT: valor de P del 5 % ajustado = 0.000397, basado en 250 permutaciones).

Los test de rangos de Wilcoxon de una cola para comprobar el exceso de heterocigosidad no fueron significativos, poniendo de manifiesto que ninguna de las poblaciones ha experimentado un cuello de botella reciente.

			C.Cantábrica	M.Galaico	Peñalara	Pirineos	S.Cebollera	S.Nevada	
Locus	At	Rt	N	1	17	76	25	3	80
Mm3	10	4.629	A	2	8	3	4	2	1
			Pr A	1	2	1			
			Rs		7.82	2.211	3.987		1
			Ho	1	0.765	0.474	0.68	0	0
			He	1	0.759	0.466	0.706	0.533	0.000
			Fis	NA	-0.007	-0.017	0.038	1	NA
Mm6	8	4.623	A	2	5	3	6	1	5
			Pr A				2		1
			Rs		4.996	2.266	5.592		3.151
			Ho	1	0.824	0.092	0.64	0	0.2
			He	1	0.636	0.137	0.633	0	0.218
			Fis	NA	-0.306	0.328	-0.011	NA	0.085
Moe2	18	9.62	A	2	9	5	13	2	7
			Pr A	1	1	1	1	1	
			Rs		9	3.322	11.299		5.132
			Ho	1	0.938	0.289	0.84	0	0.775
			He	1	0.881	0.271	0.882	0.533	0.729
			Fis	NA	-0.066	-0.068	0.048	1	-0.064
Mm4	14	5.474	A	2	6	4	9	2	3
			Pr A	1	3		3	1	
			Rs		5.941	3.347	8.529		2.677
			Ho	1	0.588	0.553	0.88	0.333	0.375
			He	1	0.635	0.506	0.838	0.6	0.423
			Fis	NA	0.075	-0.093	-0.052	0.5	0.113
Mm8	8	4.644	A	2	6	4	7	3	4
			Pr A				1		
			Rs		5.881	3.231	6.418		2.69
			Ho	1	0.353	0.526	0.52	0.333	0.588
			He	1	0.531	0.499	0.617	0.6	0.514
			Fis	NA	0.342	-0.055	0.16	0.5	-0.143
Av12	17	9.878	A	2	14	9	14	5	10
			Pr A		1				
			Rs		13.697	6.342	11.89		6.474
			Ho	1	1	0.882	0.96	1	0.775
			He	1	0.606	0.793	0.908	0.933	0.756
			Fis	NA	-0.108	-0.113	-0.059	-0.091	-0.026
Av14	15	9.876	A	2	7	8	7	2	10
			Pr A		1	1	1		2
			Rs		6.938	5.852	6.606		8.097
			Ho	1	0.882	0.597	0.783	0.333	0.835
			He	1	0.743	0.698	0.817	0.333	0.824
			Fis	NA	-0.194	0.145	0.043	0	-0.014
All loci averaged			Rs		7.753	3.796	7.760		4.174
			Ho	1	0.7643	0.488	0.758	0.286	0.507
			He	1	0.7273	0.481	0.772	0.505	0.495
			Fis	NA	-0.052	-0.013	0.019	0.489	-0.024

Tabla 6-2.-Tabla resumen de la variabilidad genética observada por locus y por población. Se incluyen los siguientes parámetros: número de individuos muestreados por población (N), número de alelos muestreados por locus y por población (A) y número total de alelos por locus sumando todas las poblaciones (At), riqueza alélica por población (Rs) (excluyendo C.Cantábrica y S.Cebollera) y por loci (Rt), diversidad genética esperada y observada (He, Ho), y coeficiente de endogamia (Fis).

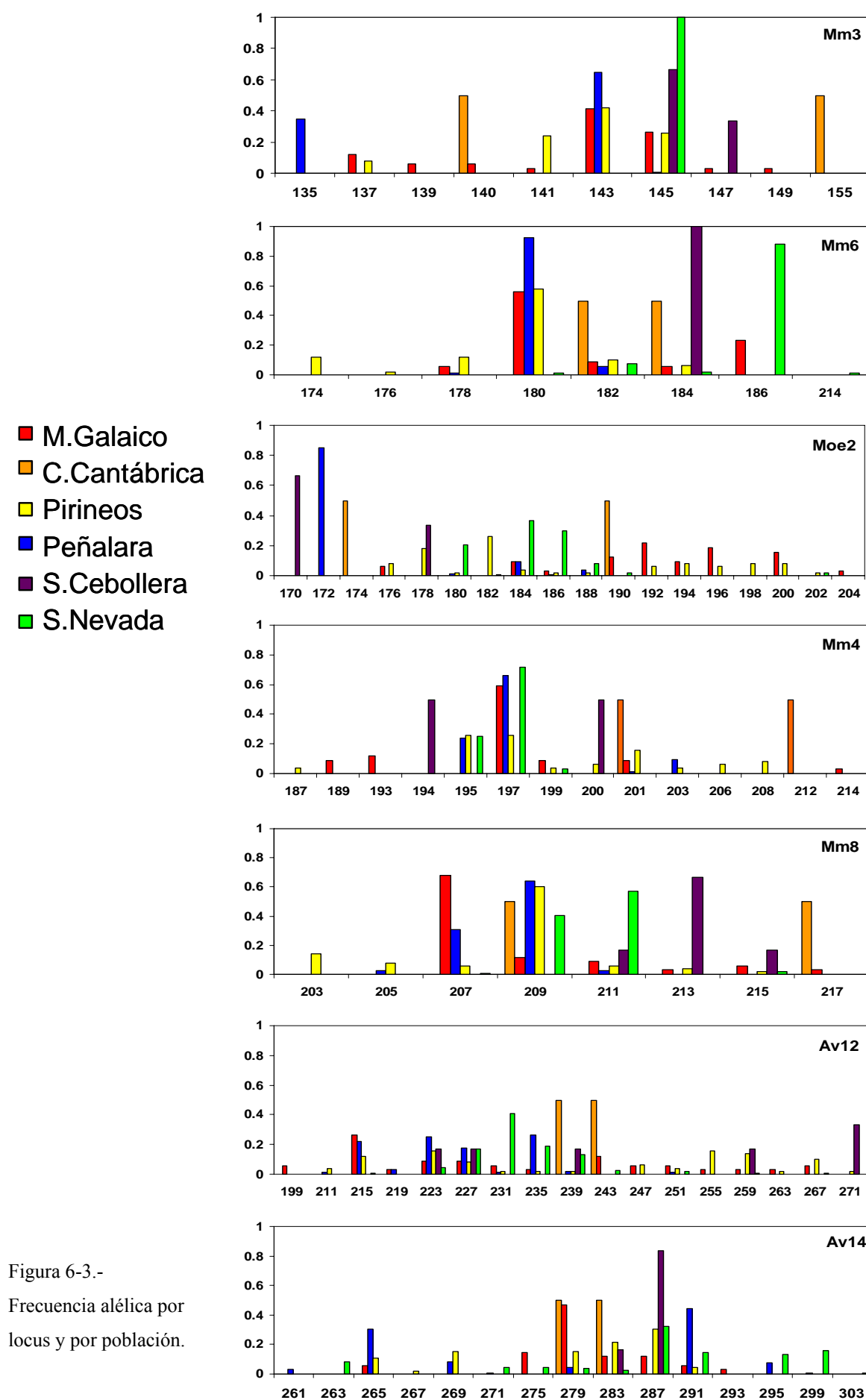


Figura 6-3.-
Frecuencia alélica por
locus y por población.

3.2. ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES

3.2.1. Test de asignación: ¿cuántos clústers genéticos tenemos?

El programa STRUCTURE modeló la asignación de los individuos a un número variable de clústers genéticos (entre 1 y 8 posibles grupos según dimos instrucciones al programa), encontrando que las simulaciones para $k = 7$ fueron las que presentaron un mayor soporte estadístico (valor más alto de $\text{Ln}(P)D$; -3379.2; Figura 6-4). La probabilidad media para $k(7)$ fue de 1.0 *versus* $8.73\text{e-}13$ para $k(5)$, que se presenta como el siguiente número de clústers más probable. Estos valores son indicativos de que el modelo con $k = 7$ es el más consistente con los datos, es decir, que entre los 202 topillos nivales analizados se distinguen siete grupos o clústers genéticos. Recordemos aquí que cada uno de estos clústers o agrupaciones genéticas se distingue de las demás por presentar una composición y frecuencias de alelos características.

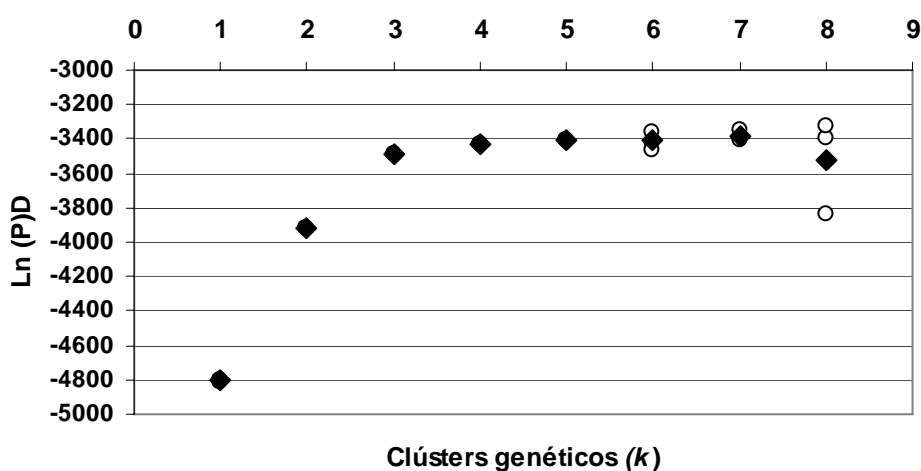


Figura 6-4.- Resultados de los análisis de STRUCTURE para los valores de $\text{Ln}(P)D$ medios y de cada iteración (rombos negros y círculos blancos, respectivamente) para cada número de clústers genéticos (k) definidos en el modelo (1-8 clústers). El mejor ajuste de los datos se produce con siete clústers, que presenta el valor más alto de $\text{Ln}(P)D$.

Los topillos nivales del M.Galaico y de la C.Cantábrica presentaron una mezcla de dos clústers genéticos (el #1 y el #2), ambos con una mayor dominancia del clúster #1 (Figuras 6-5 y 6-6). En Pirineos también se distinguieron dos grupos genéticos (el #2 y el #4), pero en esta ocasión la mayoría de los individuos estaban segregados, es decir, pertenecían a una agrupación u a otra, sin apenas existir individuos mixtos. Asimismo se distinguieron dos clusters (#3 y #7) coexistentes en Peñalara, con una mayor predominancia del primero. En esta población se observaron tanto individuos “puros” –i.e. cuya composición de frecuencias alélicas es característica de un único clúster- como “mixtos” –i.e. cuyas frecuencias alélicas reflejan una mezcla de ambos clústers-. El clúster #5 sólo se observó en S.Cebollera. Todos los individuos de S.Nevada se agruparon en un único clúster (#6), muy homogéneo y distintivo, en el que apenas se observaron mezclas derivadas de otros grupos genéticos.

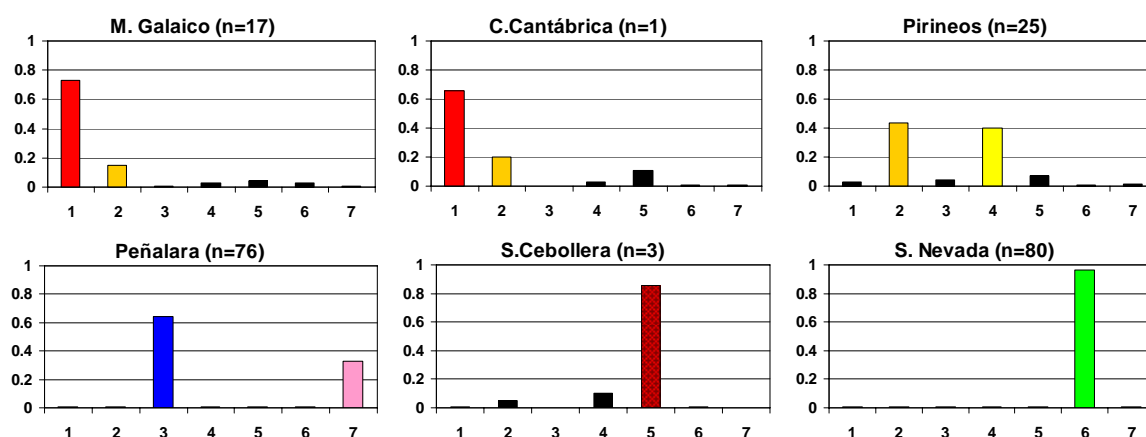


Figura 6-5.- Proporción de participación de los individuos de cada localidad muestreada en cada uno de los siete clústers genéticos definidos por STRUCTURE en base a las frecuencias alélicas.

La proporción de participación en los clústers #1 y #2 fue muy similar entre los individuos del M.Galaico y de la C.Cantábrica, sugiriendo que no existen diferencias en las frecuencias alélicas entre estas dos localidades (Figura 6-5). Sin embargo, sólo si tuviésemos un tamaño muestral mayor para la población de la C.Cantábrica, en el que esa proporción de participación se mantuviese constante con la observada, podríamos agrupar estas dos localidades (C.Cantábrica y M.Galaico) y tratarlas como una única población en

términos de su composición genética. Por otro lado, el clúster #2 es el único presente en varias localidades (M.Galaico-C.Cantábrica y Pirineos), aunque en proporciones muy diferentes y en combinación con clústers distintos (con #1 en M.Galaico-C.Cantábrica, y con #4 en Pirineos). Por tanto, aunque la presencia del clúster #2 en distintas poblaciones refleja la existencia de ancestros comunes, las poblaciones de Pirineos y M.Galaico-C.Cantábrica de hoy día son indiscutiblemente diferentes.

El resto de los clústers genéticos, bien por si mismos, o en combinación con otro clúster, son característicos y únicos de cada localidad de muestreo. Es decir, algunos clústers caracterizan de forma única una localidad, mientras que en otros casos es la coexistencia de una pareja de clústers la que caracteriza genéticamente la localidad. Esta distribución en la que se presentan los siete clústers observados refleja la existencia de cinco grupos genéticos o poblaciones distintas, delimitados por las llaves numeradas del 1 al 5 en la Figura 6-6.

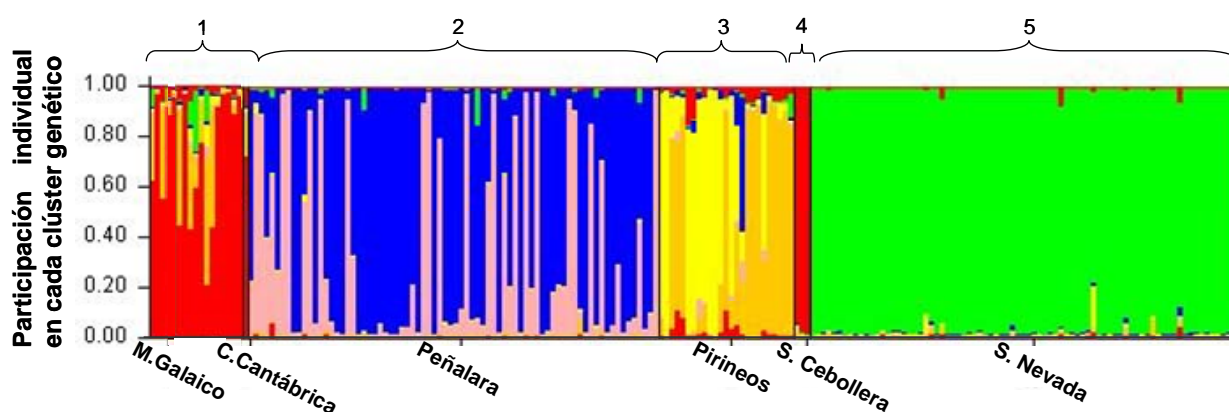


Figura 6-6.- Resultados de STRUCTURE de los análisis genéticos de 202 topillos navales usando siete microsatélites. El histograma representa la proporción de participación de cada individuo en cada uno de los siete clústers genéticos. Cada columna de color representa un individuo y cada color, uno de los clústers ($k=7$). Las llaves de la parte superior definen los cinco grupos genéticos (o poblaciones) que se distinguen.

En las poblaciones en las que se distinguen dos clústers genéticos hay algunos individuos cuya asignación a uno de los dos clústers es claramente dominante, pero otros en los que los dos clústers se manifiestan simultáneamente, bien de forma equitativa o en proporciones diferentes. Con el fin de evaluar si la dominancia de un clúster genético u

otro en cada población y en cada individuo reflejaba un patrón geográfico a lo largo del área de muestreo, ordenamos los individuos según el valor de asignación más alto a uno de los clústers y examinamos la correspondencia geográfica con las colonias muestreadas en cada localidad (para el M.Galaico y Pirineos), y a escala más pequeña, con la posición de las trampas dentro de la colonia (para Peñalara). Sólo encontramos un patrón de asignación a uno u otro clúster en función de la variación geográfica en Pirineos, donde en términos generales, los individuos capturados más al este pertenecieron al clúster #2 ($U=3$; $P > 0.05$, Mann-Whitney U-test), mientras que los individuos capturados más al oeste pertenecieron predominantemente al clúster #4 ($U=3$; $P > 0.05$, Mann-Whitney U-test). En el M.Galaico y Peñalara, no se observó ninguna correlación espacial, de modo que parece que los topillos se mezclan y reproducen libremente dando lugar a individuos con proporciones de participación en cada clúster heterogéneas que no obedecen a ningún patrón.

3.2.2. Distancias genéticas y relaciones entre poblaciones

Los valores de F_{ST} –índice de fijación- para cada par de poblaciones se presentan en la Tabla 6-3. Para la mayoría de las comparaciones los valores de F_{ST} son superiores a 0.2, indicativos de que los niveles de diferenciación genética entre poblaciones son elevados ($0.15 > F_{ST} > 0.25$) o muy elevados ($F_{ST} > 0.25$) (Wright 1978). El único caso en el que este valor cae fuera de los límites señalados es en la comparación entre M.Galaico y Pirineos ($F_{ST} = 0.1$). Las comparaciones en las que la población de la S.Cebollera estuvo presente arrojaron los valores más elevados de F_{ST} . Las diferencias genéticas entre poblaciones fueron estadísticamente significativas en todos los casos (valor de P del 5 % ajustado = 0.003, basado en 300 permutaciones). No se pudieron ejecutar las comparaciones con la población de C.Cantábrica debido a su pequeño tamaño muestral.

	M.Galaico	Peñalara	Pirineos	S.Cebollera	S.Nevada
C.Cantábrica	NA	NA	NA	NA	NA
M.Galaico		0.238	0.1008	0.3038	0.2934
Peñalara			0.206	0.5075	0.4256
Pirineos				0.2384	0.2887
S.Cebollera					0.4086

Tabla 6-3.- Valores de F_{ST} entre las poblaciones de topillo nival (*C.nivalis*) estudiadas.

Todos los valores de F_{ST} son estadísticamente significativos.

El análisis de componentes principales (PCA) de la Figura 6-7 representa visualmente las distancias genéticas entre las poblaciones estudiadas, en base a las frecuencias alélicas. Las tres dimensiones principales del PCA recogieron el 74% de la variación genética observada. En la figura se observa claramente que los individuos se agrupan formando una nube de puntos muy definida para cada población, con la excepción de las poblaciones del M.Galaico y de Pirineos. Estas dos poblaciones están representadas muy próximas entre sí, y sus nubes de puntos, más dispersas, aparentemente están mezcladas, sin embargo, realmente presentan cierta segregación a lo largo del tercer factor del PCA.

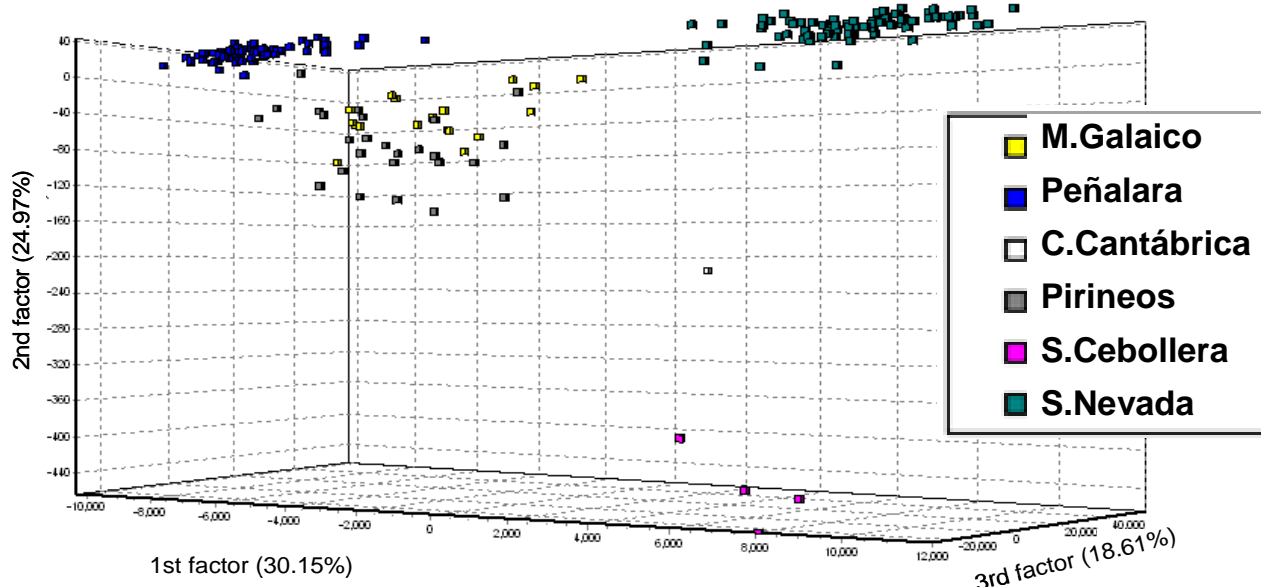


Figura 6-7.- Análisis de componentes principales (PCA) basado en las frecuencias alélicas de los siete microsatélites genotipados en seis poblaciones españolas de topillo nival.

La reconstrucción de las relaciones filogenéticas de las poblaciones estudiadas se presenta en la Figura 6-8. Sin embargo, y como se observa en la figura, sólo hemos incluido en el árbol filogenético las poblaciones ampliamente muestreadas, entre las que las estimadas de las distancias genéticas son fiables. De este modo evitamos el ruido potencial introducido por las poblaciones para las que contamos con una escasa

representación muestral. El dendrograma agrupa las poblaciones del M.Galaico y Pirineos en un único clado con dos ramas muy largas, mientras que las poblaciones de Peñalara y de S.Nevada se mantienen como clados distintos e independientes. La topografía del árbol está apoyada estadísticamente por valores bootstrap relativamente altos (71%).

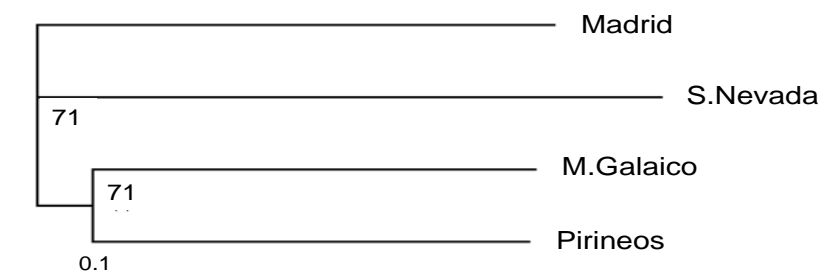


Figura 6-8.- Dendrograma de las relaciones genéticas entre cuatro poblaciones españolas de topillo nival, elaborado por el método del vecino más cercano (neighbour-joining dendrogram) y basado en la distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards (chord distance Dc). Los números de los nodos son porcentajes bootstrap basados en 1000 simulaciones a partir de los datos de los siete microsatélites genotipados. La escala lineal relaciona la longitud de las ramas con unidades de Dc.

4. DISCUSIÓN

4.1. VARIABILIDAD Y DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

El análisis de los siete microsatélites puso de manifiesto la existencia de grandes diferencias en la composición y frecuencia de los alelos entre las seis localidades de estudio, revelando diferencias genéticas significativas entre las mismas.

Las heterocigosidades esperadas (H_E) de las poblaciones de topillo nival estudiadas oscilaron entre 0.48 y 0.77, indicando marcadas diferencias entre poblaciones. No obstante, la variabilidad genética observada en los microsatélites de *C.nivalis* responde a valores intermedios entre los que puede presentar una especie de roedor amenazada (Beach mouse,

Peromyscus polionotus $H_E = 0.46-0.58$) (Wooten *et al.* 1999) y otra no amenazada (Japanese field vole, *Microtus montebelli* $H_E = 0.78-0.91$) (Ishibashi *et al.* 1999).

Peñalara fue la población que presentó una menor variabilidad genética (H_E), seguida muy de cerca de S.Nevada. En estas dos poblaciones, la riqueza alélica (R_s) fue casi la mitad de la observada en el M.Galaico y en Pirineos. Y el número de alelos totales y alelos privados también fue casi de un tercio menor para S.Nevada y Peñalara que para el M.Galaico y Pirineos. Estos datos son especialmente notables si se tiene en cuenta que estos bajos valores de diversidad alélica corresponden a las localidades para las que tenemos un mayor tamaño muestral, con casi el triple de muestras que para las otras dos. La baja diversidad genética observada en estas localidades podría llegar a justificarse para Peñalara, donde todas las muestras procedieron de la misma colonia, pero en ningún caso para S.Nevada, donde las muestras fueron recogidas a lo largo de todo el macizo.

Mediante simulaciones se ha demostrado que altos niveles de diversidad en marcadores neutrales están correlacionados con altos valores de riqueza alélica en loci sobre los que actúa la selección natural. De aquí que consideremos apropiado el uso de marcadores microsatélites (presumiblemente neutrales) para evaluar la diversidad genética de una población (Petit *et al.* 1998). Los datos que acabamos de presentar, nos están revelando, por tanto, que la población de topillo nival de S.Nevada (y de Peñalara) tiene una diversidad genética restringida y reducida en comparación con las otras poblaciones estudiadas, lo que, a largo plazo, podría representar una limitación para el potencial adaptativo de la especie en esa localidad.

Por otro lado, no se detectaron evidencias de endogamia ni de cuello de botella (declive reciente del tamaño poblacional con efecto sobre la diversidad genética) en ninguna de las poblaciones estudiadas. Parece, por tanto, que las poblaciones están estables, aunque el mantenimiento de la variabilidad genética a largo plazo podría requerir el seguimiento de las poblaciones y la protección de las colonias, especialmente en Sierra Nevada.

4.2. NÚMERO DE POBLACIONES Y RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LAS MISMAS

La aproximación bayesiana implementada en el STRUCTURE identificó siete clústers o agrupaciones genéticas. En los individuos de algunas de las localidades estudiadas se observó evidencia de dos de éstos clústers combinados, indicando que sus frecuencias alélicas reflejan características de dos clústers distintos simultáneamente. El resultado es que el modo en el que estos siete clústers genéticos están combinados, realmente, es indicativo de la existencia de cinco variedades o entidades genéticas diferenciables, que se corresponden con cada una de las seis localidades estudiadas, a excepción de las localidades de M.Galaico y C.Cantábrica que, según se ha explicado en la sección de resultados, los datos sugieren que podrían agruparse en una única entidad. Es decir, el método de agrupación bayesiano ha puesto de manifiesto una estructuración genética muy fuerte entre los topillos nivales de España. Y esta estructuración se corresponde con las localidades de muestreo, ya que la variabilidad genética observada se segrega con la localización geográfica. La asignación inequívoca de los individuos a su localidad de procedencia en base, tan solo, a la composición y frecuencias alélicas, revela una fuerte distinción genética entre las localidades estudiadas, siendo cada una de estas localidades una muestra representativa de cada uno de los principales macizos montañosos por los que la especie se distribuye en España (Tabla 6-3 y Figura 6-2).

Cluster #	Site	Subspecies
#1 + #2	M.Galaico	<i>C.n.nivalis</i> (?)
#1 + #2	C.Cantábrica	
#2 + #4	Pirineos	<i>C.n.aquitanicus</i>
#3 + #7	Peñalara (Sistema Central)	<i>C.n.abulensis</i>
#5	S.Cebollera (Sistema Ibérico)	<i>C.n.ssp</i> (?)
#6	S.Nevada	" <i>C.n.nevadensis</i> "

Tabla 6-3.- Relación entre los clústers genéticos definidos en el programa STRUCTURE, las localidades de muestreo de los topillos nivales, y la subespecie para cada localidad asignada en la bibliografía. Los signos de interrogación indican incertidumbre en la posición taxonómica o en el nombre de la subespecie. *C.n.nevadensis* es el nombre propuesto para los neverones de S.Nevada, aún no reconocidos como subespecie.

En general, la distribución espacial de las frecuencias alélicas representada en el diagrama del PCA (Figura 6-7) y la topología del dendrograma (Figura 6-8) son consistentes con el patrón expuesto de segregación entre las poblaciones. Las dos poblaciones más cercanas en términos genéticos son el M.Galaico y Pirineos. Este resultado sugiere que la conexión entre estas colonias, a lo largo de la franja norte peninsular, se mantuvo activa durante más tiempo que la conexión entre el resto de las localidades. Las poblaciones aisladas del País Vasco, y el gran núcleo poblacional de la Cordillera Cantábrica, pudieron haber actuado como puentes de conexión entre el M.Galaico y Pirineos antes de que finalmente quedasen aisladas entre sí.

Los valores de F_{ST} confirmaron la subdivisión genética de las poblaciones, con diferencias estadísticamente significativas entre todos los pares de localidades comparados. Los valores de F_{ST} registrados en este estudio entre las poblaciones de topillo nival son hasta tres veces superiores a los que se han encontrado entre poblaciones de *Microtus oeconomus* de distintos países (Holanda, Finlandia y Noruega, F_{ST} medio = 0.171 (Van De Zande *et al.* 2000)), siendo indicativo de la acusada distancia genética que existe entre las diferentes poblaciones de topillo nival de España. El topillo nórdico (*M.oeconomus*) es una especie ligada a los ecosistemas de estepa, que se extendió por toda Europa durante las glaciaciones y posteriormente su rango se fragmentó debido al calentamiento postglaciar dando lugar a poblaciones aisladas en Europa Central y Occidental (Arribas 2004). Podemos decir, pues, que ambas especies, el topillo nival y el topillo nórdico, han sufrido efectos muy similares sobre su rango de distribución y su historia biogeográfica como consecuencia de los cambios climáticos del Pleistoceno, pero que sin embargo la estructura genética de las poblaciones actuales no tiene patrones comunes.

Chionomys nivalis parece que se diferenció como especie en el área del Bósforo durante el Pleistoceno Inferior (Nadachowski 1991). Desde entonces fue expandiendo su área de distribución en pulsos con cada glaciación, cuando las condiciones climáticas se hacían más áridas y en el paisaje dominaban las estepas frías y secas. El topillo nival alcanzó su mayor distribución durante el Pleistoceno Superior (hace < 120,000 años), y fue entonces cuando llegó a España. El último periodo postglaciar, y con él la elevación de las temperaturas, comenzó hace 15,000 años en la Península Ibérica, momento a partir del cual

la recuperación de los bosques conllevó de nuevo la reducción y fragmentación del rango distribucional de los neverones, que se vieron obligados a abandonar algunas de sus áreas de residencia. Así, los yacimientos del Pleistoceno Superior de España muestran que la especie estuvo presente, por ejemplo, en las provincias de Málaga, Guadalajara y Teruel, de donde posteriormente desapareció (Arribas 2004). Los restos fósiles de los yacimientos paleontológicos nos informan pues, que durante los últimos 15,000 – 10,000 años la distribución del topillo nival en España se fragmentó, dando lugar a los núcleos poblacionales aislados que hoy en día conocemos. La evolución independiente de estas poblaciones aisladas durante más de 10,000 años, junto con el alto polimorfismo que caracteriza a la especie (Terzea 1972; Graf 1982; Krystufek 1990; Nadachowski 1991; Nadachowski 1992; Krystufek 1999) son razones de peso para esperar diferencias genéticas tan marcadas entre las distintas áreas muestreadas como las que hemos encontrado en este estudio.

El grado de distinción genética de las poblaciones analizadas apoya la subdivisión taxonómica de la especie *C.nivalis* en varias subespecies, basadas hoy en día, en criterios morfológicos relativamente imprecisos. La distancia genética entre poblaciones es una medida cuantitativa que puede ser usada potencialmente para clasificar poblaciones como subespecies. Dentro de este marco teórico, revisamos a continuación el estatus de las subespecies de topillo nival en España.

4.3. REVISIÓN DE LAS SUBESPECIES ESPAÑOLAS DE TOPILLO NIVAL

Los resultados genéticos que hemos obtenido confirman la distinción de las subespecies descritas para Pirineos -*C.n.aquitanicus*- y para el Sistema Central (representado por nuestras muestras de Peñalara) -*C.n.abulensis*-, ya que en ambas poblaciones se distinguen unos rasgos morfológicos característicos, unas composiciones genéticas únicas y están confinadas a regiones geográficas específicas (c.f. a la definición biológica de *subespecie* de (O'Brien y Mayr 1991)).

La población del Macizo Galaico también está caracterizada por una composición genética particular, pero no hay estudios que describan rasgos fenotípicos únicos para esta población. Los análisis de asignación genética sugieren que las poblaciones del M.Galaico y de la C.Cantábrica podrían considerarse parte del mismo conjunto, aunque sin duda es necesario ampliar el tamaño muestral de la población de la C.Cantábrica para confirmar esta agrupación. No obstante, insistimos en que la proximidad genética entre estas dos localidades no sería inverosímil, porque, aunque el hábitat adecuado para los topillos nivales no se extiende de manera continua entre ellas, sí existen numerosas poblaciones aisladas de carácter relíctico que podrían haber servido de conexión a lo largo del arco galaico-cantábrico hasta épocas recientes (Garzon-Heydt *et al.* 1970) (c.f. Figure 6-2).

Si este fuese el caso, entonces la población del Macizo Galaico también pertenecería a la subespecie *C.n.nivalis*, al igual que los neverones de la Cordillera Cantábrica, según recoge la bibliografía. No obstante, sea correcta o no la proximidad genética entre estas dos localidades, hemos observado varias inconsistencias en la clasificación de los topillos nivales de la C.Cantábrica como pertenecientes a la subespecie *C.n.nivalis*, según citan los textos actuales. Por un lado, *C.n.nivalis* es el nombre de la subespecie nominal, descrita para los Alpes Suizos por Martins (1842), y no hemos encontrado evidencia alguna en la bibliografía que relacione los neverones de estas dos localidades (C.Cantábrica y Alpes Suizos) desde el punto de vista morfológico, genético ni biogeográfico. De hecho, cuando se analizan bajo los mismos criterios morfológicos, las diferencias dentales hacen que estas dos poblaciones se segreguen en ramas independientes (Nadachowski 1991; Nadachowski 1992). Por otro lado, destacamos las siguientes irregularidades: la primera vez que se encontraron topillos nivales en la C.Cantábrica fueron referidos como *C.n.aquitanicus* (Niethammer 1964). Años más tarde Kratochvil (1981) revisó las subespecies europeas de *Chionomys* y rebautizó la subespecie en cuestión como *C.n.cantabricus*. Finalmente Nadachowski (1991 y 1992) incluyó esta población en unos análisis morfológicos como parte de su muestra para la subespecie *C.n.abulensis*. Por tanto, la población de la Cordillera Cantábrica ha recibido hasta cuatro nombres subespecíficos distintos, poniendo de manifiesto la necesidad de una revisión taxonómica urgente.

Hasta la fecha nunca se han analizado desde el punto de vista taxonómico los neverones de la Sierra Cebollera, ni tampoco se ha propuesto una designación de subespecie para esta población. Los valores de F_{ST} muestran que los topillos de esta localidad están más emparentados con los de Pirineos que con los de ninguna otra población, sin embargo, no dejan de constituir la población más diferenciada en términos genéticos de todas las estudiadas. La representación del PCA también ilustra esta fuerte segregación de la población de S.Cebollera. Sin embargo, el tamaño muestral con el que hemos contado para esta población es tan reducido que muy probablemente la representación de los alelos, incluyendo aquellos potencialmente comunes con otras poblaciones, esté muy sesgada. Se necesitaría por un mayor tamaño muestral de esta población para confirmar su alto grado de divergencia genética.

La población de topillo nival de Sierra Nevada nunca ha sido descrita *per se* en términos morfológicos, aunque Nadachowski la incluyó en sus estudios comparativos entre 18 subespecies de topillo nival pertenecientes a 26 poblaciones. En base a la morfología molar, Nadachowski determinó que la población de S.Nevada no formaba parte del morfotipo “lebrunii” en el que se agrupaban todas las otras subespecies vecinas de la Península Ibérica, sino que sorprendentemente presentaba más similitud con el morfotipo “nivalis”, constituido por la mayoría de las poblaciones centroeuropeas. Meylan y Graf (1973) también encontraron que, mientras el cariotipo de los neverones de la mayoría de las montañas europeas presentaban 26 pares de cromosomas todos acrocéntricos, en las poblaciones de S.Nevada y de los Alpes Suizos uno de los pares de cromosomas era submetacéntrico. Con este estudio, nosotros contribuimos a remarcar la divergencia de los topillos nivales de S.Nevada del resto de las poblaciones vecinas de la Península Ibérica desde el punto de vista genético, dada la composición y frecuencias alélicas tan distintivas y homogéneas que presenta para todos los individuos analizados. Durante los periodos interglaciares (y el postglaciar actual), las montañas constituyeron “islas continentales” que actuaron como sitios de especiación. En estos enclaves, algunas poblaciones pequeñas y aisladas sufrieron cambios dramáticos en periodos muy cortos de tiempo, que pueden considerarse casos de evolución por deriva genética (Chaline 1987). En este aspecto, Sierra Nevada destaca tanto por su papel como refugio postglaciar como por ser un importante centro de endemismo dentro del contexto biogeográfico de numerosas especies de fauna y

flora (Gómez y Lunt 2006). Contamos, por tanto, con razones de tipo morfológico, cariotípico, biogeográfico y genético que apoyan la idea de que los neverones de S.Nevada constituyen una población local diferenciada. De hecho, ya hay antecedentes en los que se sugiere que los topillos nivales de Sierra Nevada constituyen una subespecie en sí misma, aunque hasta ahora carecían de base genética. El nombre que se ha propuesto para la presunta subespecie es *Chionomys nivalis nevadensis* (Blanco y González 1992; Castells y Mayo 1993; Luque-Larena y Gosálbez 2002). A la luz de nuestros resultados y de las evidencias presentadas, y de acuerdo con la nomenclatura taxonómica actual aplicada a los topillos nivales, sugerimos que el rango de *subespecie* es adecuado para clasificar la población local de Sierra Nevada. Asimismo consideramos que el nombre propuesto, *C.n.nevadensis*, es apropiado, ya que simplemente añade al binomio latino específico un atributo subespecífico basado en el área geográfica a la que se circunscribe la subespecie, en consonancia con las reglas de la International Commission of Zoological Nomenclature (2000).

5. CONCLUSIONES

Los análisis realizados en base a los datos de los microsatélites reflejan consistentemente una fuerte variación geográfica de la diversidad genética, revelando la existencia de cinco poblaciones de topillo nival muy divergentes desde el punto de vista genético. Cada uno de estos grupos genéticos se distribuye exclusivamente en uno de los principales sistemas montañosos de España: Macizo Galaico, Sistema Ibérico (representado por las muestras de S.Cebollera), Pirineos, Sistema Central (representado por las muestras de Peñalara) y Sierra Nevada. Se requieren más muestras para caracterizar genéticamente la población de la Cordillera Cantábrica y del Sistema Ibérico.

Nuestros datos corroboran la distinción de las subespecies de topillo nival de Pirineos (*C.n.aquitanicus*) y del Sistema Central (*C.n.abulensis*). En cuanto a los neverones de la C.Cantábrica, generalmente se les atribuye a la subespecie *C.n.nivalis*, sospechosamente coincidente con la subespecie descrita en los Alpes Suizos, con la que no hemos encontrado evidencia alguna en la literatura que sustente similitud entre estas dos

poblaciones. Son necesarios, por tanto, más estudios que aclaren la posición taxonómica de la población cántabra. Recientemente se ha propuesto que los topillos nivales de Sierra Nevada constituyen una subespecie local diferenciada, justificada por razones morfológicas, cariotípicas y biogeográficas. Con los resultados del presente estudio añadimos a esta lista evidencia de su distinción genética. Consideramos que el nombre previamente propuesto para la subespecie local de topillos nivales de Sierra Nevada es apropiado: *Chionomys nivalis nevadensis*. Asimismo destacamos los bajos niveles de variabilidad genética que presenta esta población dentro del contexto ibérico, por lo que sería particularmente recomendable emprender un programa de seguimiento sobre la misma con fines preventivos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Arribas, O. (2004). *Fauna y paisaje de los Pirineos en el era glacial*. Lynx Edición. Fundació Territori i Paisatge. Barcelona. 541 pp.
- Avice, J. C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. pp. 447. Harvard University Press, Cambridge.
- Avice, J. C. y Ball, R. M. (1990). Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. *Oxford surveys in evolutionary biology*, 7:45-67.
- Barker, F. S., Helyar, S. J., Kemp, S. J. y Begon, M. (2005). Highly polymorphic microsatellite loci in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Molecular Ecology Notes*, 5 (2):311-313.
- Blanco, J. C. y González, J. L. (1992). *Libro Rojo de los Vertebrados de España*. Icona. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid. 714 pp.
- Cañon, J., Checa, M. L., Carleos, C., Vega-Pla, J. L., Vallejo, M. y Dunner, S. (2000). The genetic structure of Spanish Celtic house breeds inferred from microsatellite data. *Animal Genetics*, 31:39-48.
- Carreras-Carbonell, J., MacPherson, E. y Pascual, M. (2006). Population structure within and between subspecies of the Mediterranean triplefin fish *Tripterygion delaisi* revealed by highly polymorphic microsatellite. *Molecular Ecology*.

- Castells, A. y Mayo, M. (1993). *Guía de los mamíferos en libertad de España y Portugal*. Ediciones Pirámide, Madrid. 470 pp.
- Cavalli-Sforza, L. L. y Edwards, A. W. F. (1967). Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 21 (3):550-570.
- Cegelski, C. C., Waits, L. P., Anderson, N. J., Flagstad, O., Strobeck, C. y C.J., K. (2006). Genetic diversity and population structure of wolverine (*Gulo gulo*) populations at the southern edge of their current distribution in North America with implications for genetic viability. *Conservation Genetics*, 7:197-211.
- Corbet, G. B. (1978). *The mammals of the palearctic region. A taxonomic review.*, Cornell Univ. Press, London. 314 pp.
- Cornuet, J. M. y Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144:2001-2014. Bottleneck software at <http://www.ensam.inra.fr/URLB>.
- Cronin, M. A. (2007). The Preble's meadow jumping mouse: subjective subspecies, advocacy and management. *Animal Conservation*, 10:159-161.
- Cuenca Bescós, G. (2002). The micromammal record as proxy of palaeoenvironmental changes in the pleistocene of the Sierra de Atapuerca (Burgos, Spain). Pp. 133-138. En: Ruiz-Zapata, M. B., Dorado-Valiño, M., Valdeolmillos-Rodríguez, A., Gil-García, M. J., Bardají-Azcarate, T., De Bustamante-Gutierrez, I. y Martínez-Mendizabal, I. (eds.). *Quaternary Climatic Changes and Environmental Crises in the Mediterranean Region*. Alcalá de Henares, Madrid. 291 pp.
- Chaline, J. (1977). Les rongeurs et l'évolution des paysages et des climats au Pléistocène supérieur en France. In: Approche écologique de l'Homme fossile. *Suppl. au Bulletin de l'association française pour l'étude du quaternaire*, 47:161-170.
- Chaline, J. (1987). Arvicolid data (Arvicolidae, Rodentia) and evolutionary concepts. Pp. 237-310. En: Hecht, M. K., Wallace, B. y Prance, G. T. (eds.). *Evolutionary biology*. Plenum Press, New York.
- Chan, Y. y Arcese, P. (2002). Subspecific differentiation and conservation of song sparrows (*Melospiza melodia*) in the San Francisco bay region inferred by microsatellite loci analysis. *The Auk*, 119 (3):641-657.
- Di Rienzo, A., Peterson, A. C., Garza, J. C., Valdes, A. M., Slatkin, M. y Freimer, N. B. (1994). Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations.

- Proceedings of the Natural Academy of Sciences. USA.*, 91:3166-3170.
- El Mousadik, A. y Petit, R. J. (1996). High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theoretical and applied genetics*, 92:832-839.
- Ellerman, J. R. y Morrison-Scott, T. C. S. (1966). *Checklist of Palearctic and Indian mammals, 1758 to 1946.*, London. pp.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39:783-791.
- Filippucci, M. G., Fadda, V., Krystufek, B., Simson, S. y Amori, G. (1991). Allozyme variation and differentiation in *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Acta Theriologica*, 36 (1-2):47-62.
- Garzon-Heydt, J., Castroviejo, S. y Castroviejo, J. (1970). Notas preliminares sobre la distribución de alguno micromamíferos en el norte de España. *Saugetierk. Mih.*, 19:217-222.
- Gockel, J., Harr, B., Schlotterer, C., Arnold, W., Gerlach, G. y Tautz, D. (1997). Isolation and characterization of microsatellite loci from *Apodemus flavicollis* (Rodentia, Muridae) and *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Cricetidae). *Molecular Ecology*, 6 (6):597-599.
- Goldstein, D. B., Roemer, G. W., Smith, D. A., Reich, D. E., Bergman, A. y Wayne, R. K. (1999). The use of microsatellite variation to infer population structure and demographic history in a natural model system. *Genetics*, 151:797-801.
- Goldstein, D. B., Ruiz Linares, A., Cavalli-Sforza, L. L. y Feldman, M. W. (1995). An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics*, 139:463-471.
- Gómez, A. y Lunt, D. H. (2006). Refugia within refugia: patterns of phylogeographic concordance in the Iberian Peninsula. Pp. 155-188. En: Weiss, S. y Ferrand, N. (eds.). *Phylogeography of Southern European Refugia*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Netherlands. 377 pp.
- González-Tejero, M. R., Henares, I., Joaquín Molero Mesa, J., Ortega, F., Pérez Raya, F., Pezzi, M., Sanchez Ortega, A., Tinaut, J. A. y Valle Tendero, F. (1992). *Parque Natural de Sierra Nevada. Paisaje, fauna, flora e itinerarios*. Editorial Rueda, Madrid. 520 pp.

- Goudet, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Graf, J. D. (1982). Génétique biochimique, zoogéographie et taxonomie des Arvicolidae (Mammalia, Rodentia). *Revue Suisse de Zoologie*, 89 (3):749-787.
- Gunn, M. R., Dawson, D. A., Leviston, A., Hartnup, K., Davis, C. S., Strobeck, C., Slate, J. O. N. y Coltman, D. W. (2005). Isolation of 18 polymorphic microsatellite loci from the North American red squirrel, *Tamiasciurus hudsonicus* (Sciuridae, Rodentia), and their cross-utility in other species. *Molecular Ecology Notes*, 5 (3):650-653.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405:907-913.
- International Commission of Zoological Nomenclature. (2000). Code of Zoological Nomenclature. London (ICZN), 4th ed., 306 pp. <http://www.iczn.org/code.htm>.
- Ishibashi, Y., Yoshinaga, Y., Saitoh, T., Abe, S., Iida, H. y Yoshida, M. (1999). Polymorphic microsatellite DNA markers in the field vole *Microtus montebelli*. *Molecular Ecology*, 8 (1):163-164.
- Korn, H. (1987). Effects of live-trapping and toe-clipping on body weight of european and african rodent species. *Oecologia*, 71:597-600.
- Krapp, F. (1982). *Microtus nivalis* (Martins, 1842)- Schneemaus. Pp. 261-283. En: Niethammer, J. y Krapp, F. (eds.). *Handbuch der Säugetiere Europas, Band 2/1 Rodentia II*, Aula Verlag, Wiesbaden, Alemania. 649 pp.
- Kratochvil, J. (1981). *Chionomys nivalis* (Arvicolidae, Rodentia). *Acta Sc. Nat. Brno.*, 15 (11):1-62.
- Krystufek, B. (1990). Geographic variation in *Microtus nivalis* (Martins, 1842) from Austria and Yugoslavia. *Bonn. zool. Beitr.*, 41 (2):121-139.
- Krystufek, B. (1999). Snow voles, genus *Chionomys*, of Turkey. *Mammalia*, 63 (3):323-339.
- Luikart, G., Allendorf, F. W., Cornuet, J. M. y Sherwin, W. (1998). Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity*, 89:238-247.

- Luikart, G. y Cornuet, J. M. (1998). Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology*, 12:228-237.
- Luque-Larena, J. J. y Gosálbez, J. (2002). *Chionomys nivalis* Martins, 1842. Pp. 366-369. En: Palomo, L. J. y Gisbert, J. (eds.). *Atlas de los Mamíferos terrestres de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-SECEM-SECEMU, Madrid. 564 pp.
- Madureira, M. L. (1983). On the identification of west-european *Microtus* of the subgenera *Microtus* and *Chionomys* (Mammalia, Rodentia). A principal component analysis. *Revista de Biología*, 12:615-632.
- Martins, C. (1842). Note sur l'*Arvicola nivalis*, nouvelle espèce de campagnol habitant la région des neiges éternelles dans les Alpes de la Suisse. *Annales des sciences naturelles. Zoologie* 2:87-100.
- Mayr, E. (1963). *Populations, species and evolution: an abridgement of animal and evolution*. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 453 pp.
- Meylan, A. y Graf, J. D. (1973). Caryotype du campagnol des neiges, *Microtus nivalis* (Martins) en Europe occidentale (Mammalia, Rodentia). *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 71:441-446.
- Miller, S. (1908). The recent voles of the *Microtus nivalis* group. *Annals and magazine of Natural History*, 8 (1):97-103.
- Moncrief, N. D., Cockett, N. E., Neff, A. D., Thomas, W. L. y Dueser, R. D. (1997). Polymorphic microsatellites in the meadow vole *Microtus pennsylvanicus*: conservation of loci across species of rodents. *Molecular Ecology*, 6:299-301.
- Morales Agacino, E. (1936). Un nuevo *Microtinae* del centro de España. *Boletín de la Sociedad Española de Historia Natural*, 36:151-154.
- Nadachowski, A. (1991). Systematics, geographic variation, and evolution of snow voles (*Chionomys*) based on dental characters. *Acta Theriol.*, 36 (1-2):1-45.
- Nadachowski, A. (1992). Short-distance migration of quaternary and recent mammals: a case study of *Chionomys* (Arvicolidae). *Courier Forschungsinstitut Senckenberg*, 153:221-228.
- Nadachowski, A. y Baryshnikov, G. (1990). Pleistocen snow voles (*Chionomys* Miller, 1908) (Rodentia, Mammalia) from Northern Caucasus (URRS). *Acta zoologica*

- cracoviensa*, 34 (2):437-451.
- Nappi, A. (2002). Vertical distribution of the snow vole *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) (Rodentia, Arvicolidae) in Italy. *Hystrix*, 13 (1-2):45-52.
- Nei, N. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, USA. 512 pp.
- Niethammer, J. (1964). Ein Beitrag zur Kenntnis der Kleinsäuger Nordspanien. *Z. Säugetierk*, 29 (4):193-220.
- O'Brien, S. J. y Mayr, E. (1991). Bureaucratic mischief: recognizing endangered species and subspecies. *Science*, 251 (4998):1187-1188.
- Pérez-Suárez, G., Navlet, J. y Enrique, L. (1998). Mitochondrial DNA variability of different Iberian populations of snow vole, *Chionomys nivalis* (Martins, 1842). *Euro-American Mammal Congress*, 362:646, (24-jul-98), España, 362:646.
- Petit, R. J., El Mousadik, A. y Odile, P. (1998). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 4 (12):844-855.
- Piry, S., Luikart, G. y Cornuet, J. M. (1999). Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90 (4):504-503.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155 945-959.
- Pritchard, J. K. y Wen, W. (2004). Documentation for *Structure* software: Version 2. Department of Human Genetics. University of Chicago, USA. Software available from <http://pritch.bsd.uchicago.edu>.
- Queller, D. C., Strassmann, J. E. y Hughes, C. R. (1993). Microsatellites and kinship. *Trends in Ecology and Evolution*, 8:285-288.
- Randi, E., Tabarroni, C., Rimondi, S., Lucchini, V. y Sfougaris, A. (2003). Phylogeography of the rock partridge (*Alectoris graeca*). *Molecular Ecology*, 12:2201-2214.
- Ritz, L. R., Glowatzki-Mullis, M.-L., MacHugh, D. D. y Gaillard, C. (2000). Phylogenetic analysis of the tribe Bovini using microsatellites. *Animal Genetics*, 31:178-185.
- Ruiz Bustos, A. y Padial, J. (1980). Datos sobre el *Microtus nivalis* (Martins, 1842) actual y fósil en Granada (Andalucía). *Cuadernos de Ciencias Biológicas. Universidad de Granada*, 6-7:87-94.

- Rzhetsky, A. y Nei, M. (1992). A Simple Method for Estimating and Testing Minimum-Evolution Trees. *Molecular Biology and Evolution*, 9(5):945-967.
- Saitou, N. y Imanishi, T. (1989). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425.
- Selkoe, K. A. y Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9 (5):615-629.
- Stewart, W., Piertney, S. y Dallas, J. (1998). Isolation and characterization of highly polymorphic microsatellites in the water vole, *Arvicola terrestris* *Molecular Ecology*, 7:1258-1259.
- Takezaki, N. y Nei, N. (1996). Genetic distances and reconstrauction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144:389-399.
- Terzea, E. (1972). Remarques sur la morphologie dentaire et la répartition de *Microtus nivalis* Martins dans le Pléistocène de Roumanie. *Trav. Inst. Spéol. "Emile Racovitza"*, 11:271-298.
- Van De Zande, L., Van Apeldoorn, R. C., Blijdenstein, A. F., De Jong, D., Van Delden, W. y Bijlsma, R. (2000). Microsatellite analysis of population structure and genetic differentiation within and between populations of the root vole, *Microtus oeconomus* in the Netherlands. *Molecular Ecology*, 9 (10):1651-1656.
- Vericad, J. R. y Meylan, A. (1973). Résultats de quelques piègeages de micromammifères dans le sud-est de l'Espagne. *Mammalia*, 37 (2):333-341.
- Weir, B. S. y Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358-1370.
- Wilson, D. E. y Reeder, D. A. M. (2005). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 2142 pp.
- Wooten, M. C., Scribner, K. T. y Drehling, J. T. (1999). Isolation and characterization of microsatellite loci from the endangered beach mouse *Peromyscus polionotus*. *Molecular Ecology*, 8:167-168.
- Wright, S. (1969). *The theory of gene frequencies: evolution and the genetics of populations. Vol.2*. Chicago University Press, Chicago, USA. 215 pp.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago 580 pp.

SÍNTESIS

SÍNTESIS

1. LA ESPECIE	352
2. ESTADO DE CONSERVACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DE LAS POBLACIONES DE NEVERONES DE S.NEVADA	354
2.1. Distribución y abundancia relativa	354
2.2. Ecología	355
2.3. Genética	356
3. CICLO VITAL Y PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS	357
4. PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO	358
5. ESTUDIOS PARA EL FUTURO	358
6. PERSPECTIVAS DE CONSERVACIÓN DE LA ESPECIE A LARGO PLAZO	360

Los resultados de esta Tesis ya han sido discutidos con detalle en cada uno de los capítulos, por lo que en esta sección pretendemos ofrecer una visión general y sintética de todo el trabajo integrando las principales conclusiones de los diferentes capítulos, resaltando los aspectos más importantes, las deficiencias y sugiriendo posibles cuestiones para futuras investigaciones.

1. LA ESPECIE

El topillo nival o neverón (*Chionomys nivalis*) es un microtino exclusivo del Paleártico occidental que presenta una distribución relictica de la época glacial. Su mayor área de distribución la presentó durante el Cuaternario, cuando los cambios climáticos asociados a los periodos glaciares provocaron la expansión de los ecosistemas abiertos (estepa, tundra...) en la franja meridional de la región Paleártica. Tras las glaciaciones, la subida de las temperaturas permitió la recolonización de los bosques, lo que fragmentó el área de distribución de los neverones que se vieron relegados a ocupar áreas sin cobertura arbórea, fundamentalmente en las zonas de alta montaña.

El topillo nival está restringido a un tipo de hábitat muy específico, denominado canchal, y constituido por acumulaciones estables de bloques de piedra dispuestos caóticamente, entre cuyos intersticios los neverones desarrollan su vida. Este tipo de formaciones geológicas son características del modelado periglacial, que se produce en las altas cumbres asociado a los ciclos de hielo-deshielo que fracturan las rocas. Esto hace que, dentro de su rango de distribución, el topillo nival presente una distribución *discontinua*, ocupando fundamentalmente los principales macizos montañosos desde España hasta Irán; y *fragmentada* dentro de éstos, pues los canchales aparecen como parches salpicados en el paisaje (Figura 1). El topillo nival es un animal muy estenotermo (con muy poca tolerancia a los cambios térmicos), y en el interior de los canchales se crean unas condiciones muy estables térmicamente a las que los topillos se han adaptado, de ahí el vínculo de esta especie con este tipo de hábitat.



Figura 1.- Montañas de Rila (Balcanes búlgaros). En primer término, los canchales dispersos en el paisaje en los que habitan los topillos nivales, muy abundantes en este área

2. ESTADO DE CONSERVACIÓN Y FUNCIONAMIENTO DE LAS POBLACIONES DE NEVERONES DE S.NEVADA

Sierra Nevada constituye el extremo más suroccidental del área de distribución mundial del topillo nival. De acuerdo con las teorías sobre la distribución de las especies, esta posición periférica dentro de su rango de distribución hace que, muy presumiblemente las condiciones ecológicas disten del óptimo de la especie haciendo que las poblaciones sean menos abundantes y más vulnerables. En este sentido, y atendiendo a los criterios de amenaza que la UICN sigue para la confección de las listas rojas, se puede comprobar que, si bien a nivel mundial y de España el topillo nival se considera una especie “casi amenazada”, en Andalucía, donde la única población reside en S.Nevada, es considerada como “en peligro” de extinción.

2.1. DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA RELATIVA

Nuestros resultados evidencian que la distribución de la especie en S.Nevada es mayor que la que hasta entonces se conocía, y que se distribuye prácticamente por todas las áreas adecuadas (hábitats rocosos tipo canchales) del macizo por encima de los 2000m s.n.m., límite que coincide con el límite inferior hasta el cual se extiende en S.Nevada el modelado periglaciario, y con él los canchales de “calidad”. A pesar de estar bastante extendido por S.Nevada, las poblaciones de neverones en este área parecen estar constituidas por un menor número de individuos que en otras localidades ibéricas y europeas. Esta abundancia relativamente baja, la reducida superficie de S.Nevada y el aislamiento geográfico con otras localidades hacen que, bajo los criterios de la UICN, la población de neverones de S.Nevada deba considerarse, efectivamente, como “en peligro”, concretamente bajo la categoría EN B1ab.

2.2. ECOLOGÍA

Asimismo encontramos evidencias de que la población de neverones de S.Nevada se encuentra en peor estado que la de Peñalara, tanto a nivel de demografía poblacional como a nivel individual. En este sentido, las diferencias más destacables entre las dos poblaciones de estudio son la reducida densidad numérica de las poblaciones nevadenses y el menor tamaño corporal de los animales de S.Nevada en comparación con los de Peñalara.

La reducida densidad poblacional encontrada en S.Nevada tiene consecuencias sobre el uso del espacio, como se puede ver en el tamaño de las áreas de campeo y el grado de solapamiento entre estas: en S.Nevada los neverones presentan áreas algo más grandes y prácticamente excluyentes entre sí. Por otro lado, la menor densidad poblacional también tiene consecuencias demográficas sobre todo, cuando, como hemos visto, la especie tiene una capacidad de recuperación bajísima tras un episodio de reducción poblacional. Con respecto al menor peso de los animales adultos de S.Nevada, podría ser indicativo de un hábitat de peor calidad, que a su vez se relacionaría con áreas de campeo de mayor tamaño para ampliar las zonas de búsqueda de alimento. Todos estos indicios sugieren que, efectivamente, las condiciones ambientales y bióticas que se dan en S.Nevada en la actualidad, aparentemente no son óptimas para los topillos nivales, como cabría esperar de un área marginal de su distribución mundial.

En este sentido, la latitud, la orientación y la considerable altitud del macizo de S.Nevada lo convierten en un reducto caracterizado por unas condiciones bioclimáticas de extrema aridez. Desde esta óptica el paisaje altimontano nevadense ofrece gran similitud con la cadena marroquí del Atlas más que con el resto de las montañas ibéricas, y por supuesto que con las eurosiberianas. La prolongada aridez y sequía estival y el rigor térmico invernal son los principales elementos climáticos diferenciadores. Hielo, viento, nieve y frío limitan el crecimiento de las plantas en S.Nevada, que además se hacen muy escasas en las altas cumbres, donde se distribuyen los neverones. Además tenemos que

tener en cuenta otros factores adversos de esta localidad, como la existencia de numerosos herbívoros competidores (cabras silvestres y sobre todo abundante ganado caprino y ovino doméstico), o una presión de depredación aparentemente más alta que en otras áreas (e.g. Peñalara).

La alimentación y la depredación son dos factores clave que limitan el tamaño de las poblaciones, y también explicarían el menor tamaño de los animales adultos, así como la menor supervivencia (“tiempo de permanencia” en la colonia) que encontramos en S.Nevada en comparación con Peñalara, y con otras localidades europeas y de Asia Menor. No obstante, los factores genéticos también pueden ser muy importantes en estas cuestiones. En cualquier caso sería necesario un estudio dirigido para determinar las causas de la menor supervivencia y el menor peso corporal observado en los topillos nivales de S.Nevada en relación a otras poblaciones.

2.3. GENÉTICA

Las condiciones de aislamiento geográfico y temporal entre los núcleos poblacionales de topillo nival en toda su área de distribución hacen que hayan evolucionado independientemente los unos de los otros, al menos durante los últimos 10,000 años, dando lugar a distintas subespecies que presentan diferencias morfológicas (corporales, y sobre todo en el diseño de los molares, de pelaje, etc...), bioquímicas, etc... Así, por ejemplo, dentro del contexto ibérico se distinguen *C.nivalis abulensis* en el Sistema Central, *C.nivalis aquitanicus* en Pirineos, etc,... mientras que la población de S.Nevada aún no ha sido caracterizada ni reconocida propiamente como una subespecie diferenciada.

Mediante marcadores microsatélites se han comparado individuos de S.Nevada con los de otras localidades ibéricas (Pirineos, Sistema Central, Cordillera Cantábrica, etc...), y hemos comprobado que las diferencias genéticas entre S.Nevada y el resto de las localidades son mayores que entre el resto de los pares de poblaciones, en las que actualmente está reconocido el rango de subespecie. Es más, la composición genética de

los neverones de S.Nevada es absolutamente singular y única, en comparación con la que presentan el resto de los núcleos, aunque lamentablemente también es la población que presenta niveles de variabilidad genética más bajos. Con esta aproximación genética, hemos puesto de manifiesto que los topillos nivales de S.Nevada constituyen una entidad bien diferenciada del resto de los topillos nivales de la Península Ibérica, en base a lo cual sugerimos que el rango de subespecie es adecuado para esta población y que el nombre de *C.nivalis nevadensis* sería apropiado.

3. CICLO VITAL Y PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS

El ciclo vital lo hemos reconstruido fundamentalmente a partir de las observaciones en la colonia de Peñalara, donde la mayor abundancia poblacional y el elevado número de recapturas nos han permitido un análisis más completo y profundo que en S.Nevada.

Es sabido que las poblaciones de topillos nivales tienen una densidad relativamente constante en el tiempo, que las crías nacen en primavera y que los individuos tienen una esperanza de vida entorno a un año. Nuestros resultados coinciden con estos aspectos, y además nos han permitido verificar que la estructura de edades se invierte por completo en la población desde primavera, momento en el que está constituida fundamentalmente por adultos reproductores, hasta otoño, cuando dominan los jóvenes nacidos en el año, que no alcanzarán la madurez sexual hasta la primavera siguiente. Este relevo sucesional queda también patente en las estimas de las tasas de supervivencia específicas por edad y por estación, que ponen de manifiesto una mayor supervivencia juvenil (vs. adulta) en todos los periodos del año. Este resultado constituye una pieza clave para entender cómo esta especie puede mantener una tasa de reproducción tan baja y un desarrollo tan lento, en comparación con otras especies de microtinós.

4. PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO

Nuestra aportación en este campo ha sido la determinación de los valores de referencia característicos de algunos parámetros bioquímicos sanguíneos de los topillos nivales. Para 11 de los 15 parámetros sanguíneos estudiados los neverones analizados se comportaron como un grupo homogéneo sin presentar diferencias debidas al sexo, el estado reproductor o la localidad, lo que nos permitió establecer rangos de referencia únicos y representativos para las poblaciones estudiadas pues recogen toda la variabilidad observada. Sin embargo, los niveles de amilasa, urea, potasio y bilirrubina total difirieron en atención al sexo y/o la localidad, obligándonos a segregar la población en subgrupos para el establecimiento de los valores de referencia.

Aunque el tamaño muestral del que hemos partido es relativamente limitado, consideramos que el trabajo elaborado es una primera aproximación rigurosa a los valores de referencia del topillo nival y que, como tales, podrán servir de base para la evaluación del estatus de salud de las poblaciones de neverones.

5. ESTUDIOS PARA EL FUTURO

Somos conscientes de que la mayor limitación de esta tesis es que muchas de las conclusiones están basadas en el análisis comparativo entre dos localidades, utilizando sólo una colonia por localidad. Es decir, en muchos casos no contamos con replicas estadísticas que permitan detectar si las diferencias entre las colonias se deben realmente al efecto de la localidad, o si son diferencias intrínsecas de las colonias estudiadas en cuestión. Dicho de otra manera, podría darse el caso de que las diferencias encontradas entre S.Nevada y Peñalara puedan deberse a que la colonia de estudio de S.Nevada sea, por azar, una colonia especialmente pobre, con muy pocos individuos, y que la de Peñalara sea una colonia especialmente buena, con muchos individuos, sin que ni la una ni la otra sean representativas de su localidad.

Frente a esta crítica, es posible que la colonia de Peñalara no sea representativa de todo el Sistema Central, ni tan siquiera de toda la Sierra de Guadarrama, a la que pertenece, sino que las condiciones locales particulares del entorno de esta colonia creen un ambiente excepcionalmente favorable para el desarrollo de la población de neverones. Es decir, asumimos que es muy probable que la colonia de Peñalara contenga una población más abundante que otras colonias del Sistema Central, pero los análisis de abundancia relativa que hemos efectuado en el área sobre cinco colonias aleatorias, presentan los índices de capturabilidad más altos que hemos obtenido entre las 61 colonias muestreadas por toda la Península Ibérica. Estos resultados apoyan la idea general de que las poblaciones de neverones del Sistema Central, al nivel de Peñalara y Guadarrama, tienen una mayor abundancia relativa que las de S.Nevada, aunque no hayamos estudiado en detalle su dinámica y estructura poblacional.

Por el contrario, S.Nevada es un macizo relativamente pequeño, donde las poblaciones de topillo nival están relegadas a las cotas superiores. Dentro de este área, hemos evaluado la abundancia relativa de topillo nival en 34 colonias, obteniendo valores significativamente más bajos que los obtenidos para Peñalara-Guadarrama, en el Sistema Central. Además, en la zona de altas cumbres nevadenses, las condiciones ambientales son muy homogéneas en cuanto a precipitación, insolación, temperaturas, innivación, cobertura de herbáceas y arbustos, presencia de herbívoros, etc... Todo esto nos lleva a pensar que, aunque la ecología espacial, la evolución numérica y la biología reproductiva sólo hayan sido estudiadas con detalle en una colonia, la reducida densidad de las colonias de neverones en S.Nevada es un fenómeno extendido por toda la sierra.

La limitación de tiempo asociada a la duración de una Tesis ha restringido el trabajo de campo a algo más de dos anualidades completas. En estudios de dinámica y tendencia poblacional dos años son limitados, y mucho más en el caso de los microtinós, que con frecuencia presentan ciclos demográficos. A partir de la información que hasta ahora se tiene del topillo nival, éste es una especie no cíclica. Sin embargo, no hay ningún estudio publicado sobre el seguimiento a largo plazo de la dinámica poblacional del topillo nival con lo que, en principio, la hipótesis de que esta especie presente algún tipo de ciclo demográfico, quizás con una periodicidad muy amplia, no puede ser descartada. Bajo esta

hipótesis se podría plantear un nuevo contexto en el que se integren los resultados de esta Tesis y las diferencias demográficas que hemos observado en las dos colonias de estudio. ¿Podría darse el caso que en los años de muestreo la colonia de S.Nevada estuviese en la fase baja del ciclo, mientras que la de Peñalara se encontraba en plena explosión demográfica?.

Plausible o no está hipótesis, se pone de manifiesto la necesidad de emprender un estudio que nos permita conocer con más detalle la dinámica del topillo nival a largo plazo, que nos ayude a predecir las tendencias demográficas y a dar respuestas a preguntas del tipo: ¿una vez alcanzada una densidad poblacional tan baja como la observada en la colonia de estudio de S.Nevada, es la población capaz de recuperarse? ¿cuánto tiempo tardará?. Evidentemente implícita en estas respuestas surge la cuestión de la distancia a la que se encuentra de otras colonias, por el papel que la distancia juega en la probabilidad de recibir inmigrantes de las mismas. Es decir, que para entender en profundidad la dinámica poblacional del topillo nival nos tenemos que meter de lleno en la teoría de las metapoblaciones. De nuevo, debido a limitaciones, esta vez de tipo logístico, y a que, en realidad el trabajo de campo no fue diseñado con ese fin, este trabajo ha cubierto con detalle la dinámica poblacional de una colonia, como si estuviese aislada en el paisaje, pero no dentro de un contexto de metapoblaciones. Este aspecto, el estudio a largo plazo de la dinámica metapoblacional del topillo nival es uno de los grandes vacíos que aún quedan por rellenar.

6. PERSPECTIVAS DE CONSERVACIÓN DE LA ESPECIE A LARGO PLAZO

Este estudio comparado de las distintas poblaciones ha puesto de manifiesto un panorama muy poco alentador para las poblaciones de topillo nival de S.Nevada, donde, en comparación con Peñalara, las poblaciones tienen una abundancia muy baja, y los animales presentan una peor condición física (menor tamaño corporal) y una supervivencia más baja (menor tiempo de permanencia en la colonia). A la vista de los resultados, nuestra hipótesis

es que la climatología extrema de S.Nevada afecta negativamente a las poblaciones de topillo nival, especie que se expandió por las atemperadas estepas del sur de Europa y Asia Menor, mientras que Europa septentrional estaba cubierta por las nieves permanentes durante la última glaciación. Posteriormente, la subida de las temperaturas redujo y fragmentó el área de distribución de los neverones forzándolos a ocupar las altas montañas, fundamentalmente, donde los medios abiertos persistieron. El frío intenso y la cubierta nival son comunes en todas las zonas de alta montaña donde se distribuye hoy en día el topillo nival. Sin embargo, en éstas no se produce la extrema aridez y sequía estival tan prolongada que se observa en S.Nevada, y que son producto de su baja latitud, principalmente (además de su orientación y orografía, secundariamente). Este hecho convierte a S.Nevada en un reducto de especial interés paleoecológico, sobre todo, por lo que respecta a los acontecimientos biogeográficos acaecidos a lo largo del Cuaternario, entre los que se encuentra la llegada del topillo nival al macizo.

Nuestra predicción con respecto al topillo nival, al igual que otras especies relictas que se extendieron durante las glaciaciones hacia zonas más atemperadas donde hoy sólo conservan un área relativamente pequeña y aislada del grueso de su área de distribución en Europa, es que se trata de especies que están abocadas a la extinción, y que poco a poco, en un lento proceso de rarefacción sus poblaciones se están reduciendo y empezando a desaparecer allí donde las condiciones ambientales distan más de su óptimo. En este sentido, la población de neverones de S.Nevada estaría en un proceso de rarefacción relativamente avanzado, mientras que en otras localidades aún no es tan conspicuo.

Además de la escasa disponibilidad de alimento (dependiente de la duración del periodo vegetativo y éste, a su vez, de la climatología) y de la abundancia de depredadores, que como se ha adelantado previamente, son factores limitantes del tamaño de las poblaciones, en S.Nevada las poblaciones de topillo nival se ven también amenazadas como consecuencia del escaso número de colonias, de su pequeño tamaño y de la escasa conectividad entre ellas. Estas características les hacen especialmente vulnerables a procesos estocásticos que podrían acabar con la viabilidad de las colonias.

Si la tendencia general de cambio climático continua, y con ella el aumento generalizado de las temperaturas y la reducción de las precipitaciones y la innivación, las condiciones de aridez que hoy día dominan en S.Nevada se extenderán a otras áreas de distribución del topillo nival. Bajo este supuesto de calentamiento global, nos atrevemos a hipotetizar que el escenario de decadencia poblacional que observamos en S.Nevada es el anticipo de lo que ocurrirá en aquellas localidades de distribución de la especie en las que los modelos predictivos apuntan hacia un aumento de la temperatura y una menor precipitación e innivación.

Si realmente este hipotético escenario es el que sobreviene, desafortunadamente poco podemos hacer por tratar de conservar la especie y de que perdure en el tiempo a largo plazo. La formación y la rarefacción natural de las especies son parte del mismo proceso evolutivo, que seguirá su curso y ritmo ajeno a los planes de conservación y manejo.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1) Situación del topillo nival en Sierra Nevada

- 1.1. Del estudio de la **distribución y selección de hábitat** del topillo nival en S.Nevada se desprende que los neverones se distribuyen homogéneamente por todo el macizo, ocupando los medios adecuados (canchales de rocas estables) situados por encima de los 2000m s.n.m. Este límite altitudinal coincide con la cota a partir de la cual se encuentran los fenómenos glaciares y periglaciares que dieron lugar a la aparición de los canchales en los que habitan los neverones.
- 1.2. La comparación de la **abundancia relativa** de las colonias de neverones, medida a través del índice de capturabilidad, puso de manifiesto que en las colonias de topillo nival de S.Nevada viven, proporcionalmente, menos individuos que en otras localidades de la Península Ibérica, como por ejemplo Pirineos y Guadarrama.
- 1.3. Considerando los criterios de la UICN, el grado de amenaza de la especie a escala mundial y de España es de “riesgo menor”. En S.Nevada se encontraría “en peligro de extinción”.

2) Evolución del peso y estrategia vital del topillo nival

- 2.1. La duración del **periodo de reproducción** en Peñalara es de cinco meses, desde mitad de abril hasta mitad de septiembre, mientras que en Sierra Nevada, la mayor duración de la cubierta nival, debido a la altitud, y la mayor aridez ambiental, provocan que el periodo de actividad sexual se retrase y acorte hasta reducirse a cuatro meses, desde finales de abril hasta finales de agosto.

- 2.2. En Peñalara la tasa de crecimiento no presenta diferencias intersexuales desde primavera, momento en el que nacen las crías hasta el otoño. Sin embargo, el crecimiento invernal sí es mayor en machos que en hembras. Tras el invierno los animales **adquieren la madurez sexual**, con 40g ellas y con 50g ellos, umbrales que nos permiten diferenciar entre jóvenes nacidos en el año y adultos reproductores. Existe **dimorfismo sexual** en el peso de los individuos adultos, siendo más pesados los machos que las hembras.

En Sierra Nevada los animales presentan, en general, un peso menor que en Peñalara en todas las etapas vitales. Así, la madurez sexual la adquieren al menos a partir de 30g las hembras y de 35g los machos, no habiendo diferencias significativas en el peso entre sexos en los animales adultos.

- 2.3. Los animales se reproducen a lo largo de su segunda primavera y verano, y al llegar al otoño apenas quedan adultos con vida. En este momento la población está prácticamente constituida por jóvenes del año que tras el invierno serán los adultos reproductores de la nueva generación. Esto hace que, aunque en general las poblaciones de neverones se caractericen por la estabilidad numérica, la **estructura de edad** de la población se invierta a lo largo del ciclo reproductor, estando en primavera prácticamente constituida por adultos mientras que en otoño dominan los jóvenes del año. En concordancia con esta estrategia vital, la **esperanza de vida** de los topillos nivales es de poco más de un año.
- 2.4. El peso de los animales disminuye significativamente según aumenta el número de recapturas en una sesión dada. Esta pérdida de peso es indicativa de que el **trampeo reiterado tiene efectos perjudiciales** sobre los animales, y de que no es recomendable el seguimiento de poblaciones de topillo nival mediante técnicas de captura-marcaje-recaptura durante más de tres noches en cada sesión primaria de trampeo.

- 2.5. Entre la comunidad de micromamíferos que coexiste con los neverones en los canchales destacan por su abundancia el ratón de campo *A.sylvaticus* y el lirón careto *E.quercinus*. De este último, sospechamos su papel como **depredador** de topillo nival en S.Nevada, especie hasta ahora no incluida en la lista de depredadores potenciales de neverones.
- 2.6. A lo largo de los dos años de seguimiento la **abundancia poblacional** de topillo nival en Peñalara presentó un crecimiento gradual, mientras que en S.Nevada se redujo hasta límites muy bajos sin llegar a mostrar evidencias de recuperación en ningún momento.
- 2.7. Además de esta menor abundancia de la colonia de S.Nevada, el **tiempo de permanencia** de los animales en ésta colonia también es menor, habiéndose recapturado sólo 2 individuos de 36 (5.5%) tras el invierno, mientras que en Peñalara se recapturaron 12 de 64 (18.7%).

3) Parámetros demográficos de la colonia de Peñalara

- 3.1. Los datos procedentes de un diseño de captura-marcaje-recaptura basado en el modelo robusto de Pollock nos han permitido cuantificar por primera vez para el topillo nival interesantes parámetros demográficos. Entre ellos destacan la tasa de **supervivencia específica por edad** (juveniles vs. adultos) y **por estación** (primavera, verano y otoño). Los resultados muestran que los juveniles tienen una mayor supervivencia que los adultos en cualquier época del año. Esta aportación es una pieza clave para entender la estrategia demográfica del topillo nival, caracterizada por una baja tasa de reproducción, un crecimiento muy lento y una madurez sexual muy tardía, en comparación con otros microtininos. Una estrategia de este tipo es sostenible gracias a la alta tasa de supervivencia, especialmente notable en la etapa juvenil, lo que les permite mantener la estabilidad numérica poblacional.

- 3.2. Las elevadas **tasas de captura y recaptura** son indicativas de que prácticamente estamos capturando todos los individuos de la población (97%) a lo largo de una sesión de trampeo de tres noches. De hecho, las **estimas de abundancia** calculadas por el modelo y el número de animales distintos capturados en el campo son prácticamente coincidentes. Estos resultados permiten asumir que, bajo una intensidad de muestreo como la aplicada, el número de neverones capturados representa la abundancia total de la población contenida en la malla de trampeo en Peñalara.
- 3.3. La **densidad poblacional** de la colonia de Peñalara es una de las más altas y estables registradas para la especie en un contexto europeo. En el extremo opuesto está la colonia S.Nevada, con una densidad 6 veces menor.

4) Ecología espacial y sistema de apareamiento

- 4.1. Mediante técnicas de radioteledetección hemos obtenido información sobre el **uso del espacio** de topillos nivales adultos con el fin de relacionarlo con el **sistema de apareamiento** de la especie. El hecho de que el área de campeo de cada individuo solape con la de 2 ó 3 conespecíficos del sexo opuesto, y que la superficie compartida entre machos es casi 2.5 veces más que la compartida entre hembras descartan la monogamia y la poliginia, respectivamente, poniendo de manifiesto que la promiscuidad parece ser la estrategia dominante en la colonia de Peñalara.
- 4.2. Las diferencias que hemos encontrado en los **patrones de uso del espacio** en Peñalara y S.Nevada muestran que el área de campeo de los animales de Peñalara queda definida por un único contorno, mientras que en S.Nevada a menudo estuvieron constituidas por dos contornos, uno principal y otro de menor tamaño, indicando que los animales hacen excursiones regulares a áreas específicas para satisfacer sus requerimientos. En este sentido, el tamaño de las áreas de campeo en

S.Nevada también fue hasta 15% más grande que en Peñalara, aunque las diferencias no fueron significativas, probablemente debido al bajo tamaño muestral. Ambos aspectos sugieren que S.Nevada es un medio más pobre en recursos.

5) Bioquímica sanguínea

- 5.1. El efecto del sexo, la condición reproductora y la localidad fueron evaluados en 14 parámetros bioquímicos más el hematocrito, con el fin de obtener los **rangos de referencia** específicos para el topillo nival con el mayor grado de representatividad de la variabilidad poblacional posible.
- 5.2. Así, aportamos la primera contribución al conocimiento de los parámetros bioquímicos del topillo nival, y como tales serán de gran utilidad como punto de referencia y como herramienta de diagnóstico sobre el estado de salud de sus poblaciones.

6) Caracterización genética de las poblaciones ibéricas de topillo nival

- 6.1. El análisis genético con marcadores microsatélite de los principales núcleos poblacionales de topillo nival de la Península Ibérica revela la existencia de **cinco poblaciones** muy divergentes desde el punto de vista genético, cada una de ellas restringida a una de las áreas geográficas donde habitan los neverones en España.
- 6.2. La población de topillo nival de **S.Nevada** destaca por su **singularidad genética**, con lo que aportamos evidencias para que sea reconocida como subespecie local, como ya lo son las poblaciones del Sistema Central y de Pirineos.

AGRADECIMIENTOS

Permítanme comenzar este apartado con un pequeño relato:

“Era la primera vez que transitaba aquellos carriles polvorientos de la alta montaña, semiabandonados y solitarios sólo en apariencia, pues en aquel día me llegué a cruzar con *hasta* cuatro personas... Entre ellos destacan el pastor Carmelo, un hombre ya mayor, rural, hecho y crecido en la soledad de la montaña, toda su vida a cargo de un rebaño de cerca de 400 ovejas a las que reconoce individualmente, y un alto cargo de la guardería oficial del espacio natural. Con los dos mantuve la misma conversación: me presenté, y les expliqué en que consistía el estudio que me llevaba por aquellos lares. Un año más tarde, en ese mismo carril, me volví a tropezar con estos personajes.

- Hombre! Otra vez por aquí, la chica de las trampas (¿??)

Fueron las palabras (decepcionantes) del oficial de guardería –pues cuanto menos yo esperaba que me recordase como “la chica de los topillos”-, quien por segundo año consecutivo evidenció su interés por mi material de captura al que ya el año pasado le había echado un ojo e incluso me había pedido un par de trampas para eliminar las ratas de su jardín!!

El encuentro con Carmelo tuvo otro cauce. Cada uno en una dirección nos cruzamos al volante en el carril y entonces por el rabillo del ojo nos reconocimos. Frenamos en seco nuestras C-15, nos apeamos corriendo y en medio de la polvareda nos saludamos con un afectuoso abrazo y estas sencillas palabras...

- Hombre Diana!, ¿otra vez por aquí buscando topillos?

...que me llenaron por dentro y pensé: Olé Carmelo!!!“

- Dedicado a los que valoran y respetan a las personas -

Voy a iniciar ahora un rápido recorrido con el que quiero recordar y agradecer a todas las personas que me han brindado su apoyo de alguna u otra manera a lo largo de este “proyecto-aventura”, y que han compartido conmigo parte del camino.

Mis primeras palabras de agradecimiento van en mayúsculas para mis padres, quienes no siempre han estado de acuerdo con la aventura en la que estaba metida, pero que siempre me han apoyado, ayudado logísticamente e incluso compartido conmigo horas de campo, trampeo y sol en los canchales. Os quiero!

En Sierra Nevada, Jose (J.A.Garrido) ha sido también más que una ayuda, ha sido un compañero de aventuras que pronto se convirtió en un buen amigo. Generoso, divertido, trabajador nato y gran conocedor del medio nevadense. Gracias por todo, Jose!

Quiero también dedicar unas palabras de agradecimiento a “los Pacos” del Albergue Juvenil, donde me alojé durante gran parte de mi tiempo en S.Nevada. Gracias por hacerme sentir como en casa!

En Peñalara Pablito me acompañó en un par de muestreos, capturó la hembra más gorda de las que tengo registro y tuvimos ocasión de recordar y reirnos del pasado, el presente y el futuro. Gracias Pablo, siempre. Xosé también me echó una buena mano al cubrir gran parte del trabajo de telemetría en Peñalara.

En Pirineos, el premio gordo se lo lleva Carmen. Gracias Carmencita por acompañarme en esas tres semanas de intenso trabajo de campo (y risas desenfrenadas!!).

En el campo también me han ayudado: Paco, quien me enseñó el arte del *trampeo* y con quien capturé mi primer nivalis, Adrián, Isa, Rosa, Laura...

Avanzando en este recorrido geográfico dejo la Península Ibérica y mis agradecimientos se extienden hasta la Universidad de Reno (Nevada, EEUU), donde realicé los análisis genéticos de los neverones de la mano de Mary y Verónica. *Thank you, my ladies*, por vuestras enseñanzas, por vuestro trato tan cariñoso, y por vuestra amistad.

También por aquellas tierras lejanas estoy infinitamente agradecida a Patrick, por su inestimable ayuda con el programa Mark. No sé que hubiese sido del capítulo de Dinámica Poblacional sin él. Gracias por las innumerables respuestas (paciencia y horas) que me has dedicado!

Y estando así, de ruta virtual por la otra parte del mundo, no puedo evitar que el recuerdo de Tom me invada por dentro, y con él esbozar una sonrisa y hacer maripositas con los ojos... Ahora puedo decir que no hay nada imposible. Mil besos para ti!!

De vuelta en España no quiero dejar de mencionar a esas personas que aprecio, valoro y quiero, y que aunque no necesariamente han contribuido directamente a esta tesis, su amistad y calor son las fuerzas que me llenan de energía día a día. Gracias!...

A Evita, alegría a la enésima potencia, por revelarme el poder de los “canales neuronales”, por su risa contagiante y por hacerme sentir privilegiada por ser su amiga. A Rosita, fuente desbordante de vitalidad y energía, por el doble papel de amiga y hermana (que nunca tuve). A Seve, “peazo” de mujer, por su entereza y por su saber cuidar las amistades.

A Jordi por hipnotizarnos con sus trucos de magia; a Héctor, por compartir su sabiduría viajera; a Nono, por su amistad sincera y por sacarme de bailoteo; a Manuela, Amparo, David, Grego, Bea, Ana, Juanele, Quini, Migue, por las buenas risas en el comedor; a Hugo, porque siguió siendo amigo; a Ernesto, por poder confiar en él; a David, por su ayuda con los Sig; a las *secres* (Carmen), por su rapidísimo trabajo; y a los que en esta lista dejo atrás inintencionadamente...

Por último voy a pasar a la sección de los “agradecimientos oficiales”. En primer lugar quiero agradecer al programa FPI de la Comunidad de Madrid por concederme una beca predoctoral de cuatro años de duración. A Ramón por darme la oportunidad de realizar esta tesis en la Estación Biológica de Doñana. A Quico, por todas las firmas y las fiestas. Especial atención se merecen la guardería y los agentes forestales del Parque Nacional de Sierra Nevada y del Parque Natural de Peñalara, por su generosidad y ayuda desinteresada.

Muchas gracias a todos!